

# Karbapeneemeille resistentit enterobakteerit eläimillä

Katarina Eskola

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

Helsingin yliopisto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto

2019



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning - Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare - Author ELK Katarina Eskola			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Karbapeneemille resistentit enterobakteerit eläimillä			
Oppiaine - Läroämne - Subject Eläinlääketieteellinen kliininen diagnostiikka			
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatin tutkielma		Aika - Datum - Month and year Huhtikuu 2019	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 32 + kansilehti, tiivistelmä, sisällys, lyhenteet, lähdeluettelo
<p>Tiivistelmä - Referat – Abstract</p> <p>Tämän lisensiaatintyön tarkoituksena on luoda ajantasainen kirjallisuuskatsaus eläinten karbapeneemille resistenteistä enterobakteereista. Aihe on ajankohtainen ja tärkeä, sillä mikrobilääkeresistenssin kehittyminen ja leviäminen uhkaavat sekä ihmisten että eläinten terveyttä maailmanlaajuisesti. Karbapeneemit ovat beetalaktaameihin kuuluvia mikrobilääkkeitä ja ne luokitellaan korkean prioriteetin kriittisen tärkeiksi reservimikrobilääkkeiksi. Karbapeneemejä käytetään ihmisillä gram-negatiivisten bakteerien aiheuttamien vakavien infektioiden hoitoon, mutta eläimille karbapeneemien käytöllä ei tiettävästi ole indikaatiota. Karbapenemaasit ovat karbapeneemejä hajottavia entsyymejä. Tässä työssä keskitytään erityisesti karbapenemaasientsyymejä tuottaviin enterobakteereihin, mutta työssä mainitaan myös tutkimuksia, joissa on havaittu ainoastaan herkkyysmäärittämisessä bakteerikannan alentunutta herkkyyttä karbapeneemille.</p> <p>Enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä alettiin tutkia eläimillä vasta 2000-luvulla. Karbapeneemille resistentit enterobakteerikannat ovat nykytietämyksen mukaan vielä melko harvinaisia. Karbapenemaaseja on kuitenkin löydetty eläinten enterobakteereilta tähän mennessä lähes kaikista maanosista. Suomessa löydettiin ensimmäinen karbapeneemille resistentti enterobakteerikanta koiralta vuonna 2015. Työn lähtökohtana ovat maailmalla lisääntyneet karbapeneemiresistenssilöydökset sekä ihmisillä että eläimillä. Vaikka karbapeneemiresistenssiä esiintyy myös muilla kuin enterobakteereilla, valikoituivat enterobakteerit tähän työhön, koska moni enterobakteerilaji kuuluu eläinten suolistomikrobistoon ja toisaalta osa enterobakteereista on patogeneja. Karbapeneemiresistenssin suhteen tutkituimpia enterobakteerilajeja ovat <i>Escherichia coli</i> ja <i>Klebsiella pneumoniae</i>. Tässä työssä ei käsitellä eläinperäisissä elintarvikkeissa esiintyvää enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä, vaikka tutkimusta tästäkin aiheesta on jo tehty.</p> <p>Tässä kirjallisuuskatsauksessa käytetty aineisto edustaa kattavasti nykytietämystä aiheesta. Kirjallisuuden perusteella käy ilmi, että enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä on tavattu niin seuraläimillä, tuotantoeläimillä kuin luonnonvaraisillakin eläimillä. Toistaiseksi esiintyvyys on todennäköisesti pieni, mutta useissa tutkimuksissa tulosten luotettavuuden arviointia hankaloittaa pieni otoskoko tai epäherkkä tutkimusmenetelmä. Tutkimusta etenkin esiintyvyydestä ja resistenssin siirtymisestä eläimen ja ihmisen välillä kaivattaisiin lisää. Koska enterobakteerien karbapeneemiresistenssilöydöksiä on alettu löytää enemmän, tulisi myös karbapeneemiherkkyys testata kliinisten näytteiden mikrobilääkeherkkyksiä tutkiessa. Resistenssin kehittymisen hillitsemiseksi kliinikoiden tulisi noudattaa ajantasaisia mikrobilääkkeiden käyttösuosituksia. Mikrobilääkeresistenssin leviämisen ehkäisemisessä asianmukaiset hygieniakäytännöt ovat ensiarvoisen tärkeitä.</p> <p>Tämä lisensiaatintyö toimii ajantasaisena koontina eläinten karbapeneemille resistenteistä ja etenkin karbapenemaaseja tuottavista enterobakteereista ja on hyödyllinen esimerkiksi kliinisessä työssä tai tartuntatautien parissa työskenteleville eläinlääkäreille ja lääkäreille.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords Karbapeneemiresistenssi, enterobakteerit, CPE, karbapeneemi, antibioottiresistenssi, mikrobilääkeresistenssi, antibiootti, resistenssi, KPC, VIM, IMP, NDM, OXA			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Johtaja: dosentti, ELT Merja Rantala Ohjaaja: ELT Thomas Grönthal			

# SISÄLLYS

<b>1 JOHDANTO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 ENTEROBAKTEERIT .....</b>	<b>3</b>
2.1 Yleistä enterobakteereista.....	3
2.2 Rakenne ja virulenssi.....	3
2.3 Genomi ja geneettisen materiaalin siirtyminen.....	5
<b>3 KARBAPENEEMIRESISTENSSI.....</b>	<b>6</b>
3.1 Karbapeneemit.....	6
3.2 Resistenssimekanismit.....	8
3.3 Karbapenemaasien luokittelu .....	10
3.3.1 Luokitteluperusteet.....	10
3.3.2 Luokka A.....	12
3.3.3 Luokka B.....	12
3.3.4 Luokka C.....	12
3.3.5 Luokka D.....	12
3.4 Epidemiologia.....	13
3.4.1 Enterobakteerien epidemiologia.....	13
3.4.2 Karbapenemaasien epidemiologia ihmisillä.....	13
3.5 Karbapenemaasituoton tutkiminen.....	15
<b>4 CPE-BAKTEERIEN ESIINTYMINEN ERI ELÄINLAJEILLA.....</b>	<b>18</b>
4.1 Kotieläimet.....	18
4.1.1 Koirat.....	18
4.1.2 Kissat.....	20
4.1.3 Pienet lemmikkinisäkkäät.....	21
4.1.4 Lemmikkilinnut.....	21
4.1.5 Hevoset.....	22
4.2 Tuotantoeläimet.....	22
4.2.1 Siat.....	23
4.2.2 Märehtijät.....	24
4.2.3 Siipikarja.....	25
4.3 Luonnonvaraiset eläimet .....	26
4.3.1 Linnut.....	26
4.3.2 Muut kädelliset.....	28
4.3.3 Riistaeläimet.....	28
4.3.4 Hyönteiset.....	28
<b>5 POHDINTA .....</b>	<b>30</b>
<b>6 LÄHDELUETTELO .....</b>	<b>33</b>

## LYHENTEET

AmpC	luokan C beetalaktamaaseja, hajottavat kefalosporiineja, useimpia penisilliinejä ja beetalaktamaasi-inhibiittori-beetalaktaami-yhdistelmiä
CP	carbapenemase producing, karbapenemaasia tuottava (bakteeri)
CPE	carbapenemase producing <i>Enterobacteriaceae</i> , karbapenemaasia tuottavat enterobakteerit
CRE	carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> , karbapeneemeille resistentit enterobakteerit
EHEC	enterohemorraaginen <i>E. coli</i>
ESBL	extended-spectrum betalactamase, laajakirjoisia beetalaktamaasientsyymejä
IMP	active-on-imipenem, luokan B karbapenemaasi
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase, luokan A karbapenemaasi
MBL	metallobeetalaktamaasi
MGE	mobile genetic element, liikkuva geneettinen materiaali
NDM	New Delhi metallo-beta-lactamase, luokan B karbapenemaasi
OXA	oxacillinase, oksasilliinaasi, luokan D karbapenemaasi
PBP	penicillin-binding protein
VIM	Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase, luokan B karbapenemaasi

# 1 JOHDANTO

Mikrobilääkeresistenssi on kasvava maailmanlaajuinen huolenaihe. Mikrobilääkkeiden käytön ja matkustelun lisääntyessä resistenssin muodostuminen ja leviäminen kiihtyy (WHO 2017). Mikrobilääkkeitä käytetään infektioiden hoidon lisäksi joissain maissa tuotantoeläinten kasvunestäjinä sekä infektioiden ennaltaehkäisyssä. Karbapeneemit ovat laajakirjoisia beetalaktaamiryhmän mikrobilääkkeitä, joita käytetään vakavien gram-negatiivisten bakteerien aiheuttamien infektioiden hoitoon. Maailman terveysjärjestö WHO luokittelee karbapeneemit korkean prioriteetin kriittisen tärkeiksi reservimikrobilääkkeiksi ja niiden käytön tulisi olla tarkoin perusteltua (WHO 2017). Karbapeneemiresistenssin syntymisen ja leviämisen voidaan sanoa olevan merkittävä kansanterveydellinen huolenaihe, sillä se rajoittaa suuresti vakavien, henkeä uhkaavien infektioiden hoitoa (WHO 2017).

Karbapenemaasit ovat karbapeneemejä hajottavia entsyymejä. Karbapenemaaseja esiintyy pääasiassa *Enterobacteriaceae* -heimon bakteereilla eli enterobakteereilla sekä *Pseudomonas aeruginosalla* ja *Acinetobacter baumannilla* (Queenan ja Bush 2007). Tässä lisensiaatin työssä keskitytään enterobakteerien karbapeneemiresistenssiin, sillä useat enterobakteerit ovat eläimilläkin potentiaalisia taudinaiheuttajia ja osa niistä kuuluu suoliston normaalimikrobistoon.

Enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä on kuvattu ihmisillä 1990-luvulta lähtien (Osano ym. 1994). Karbapenemaasientsyymejä löydetään enterobakteereilta jatkuvasti uusia ja eläimillä niitä on raportoitu samoja kuin ihmisillä. Epidemiologisissa selvityksissä on havaittu, että karbapeneemille resistentit bakteerikannat ovat aiheuttaneet tartuntaryvästymiä esimerkiksi sairaalaympäristöissä (Cantón ym. 2012). Tutkimuksissa on myös osoitettu, että karbapeneemiresistenssi voi siirtyä eläimen ja ihmisen välillä eli zoonootisesti (Grönthal ym. 2018). Patogeenien lisäksi resistenssiä voi esiintyä kommensaalibakteereissa, jolloin ne voivat toimia reservuaarina resistenssigeeneille ja siirtää geenejä edelleen patogeeneille. Lisää tutkimustietoa kaivataan etenkin karbapenemaasigeenien epidemiologiasta ja siitä, miten tartunta tapahtuu eläimen ja ihmisen välillä.

Karbapenemaasientsyymejä tuottavia enterobakteereita kutsutaan englanniksi nimellä ”carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*”, lyhennettynä CPE. Käytössä on myös toinen

käsite, ”carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*” eli CRE. CRE viittaa yleisemmin karbapeneemeille resistentteihin enterobakteereihin, kun taas CPE nimenomaan karbapenemaasientsyymejä tuottaviin enterobakteereihin. Tässä työssä käytetään lyhennettä CPE, sillä karbapenemaasientsyymien tuottaminen on yleisin enterobakteerien karbapeneemiresistenssimekanismi ja lyhenne on yleisesti käytössä alan kirjallisuudessa.

Tämän liseniaatintyön tarkoituksena on luoda ajantasainen katsaus maailman karbapeneemiresistenssitilanteesta eläimissä esiintyvissä enterobakteereissa. Työn lähtökohtana ovat maailmalla lisääntyneet CPE-löydökset sekä ihmisissä että eläimissä. Suomessa terveydenhuollon CPE-positiiviset näytteet ovat lisääntyneet vuosi vuodelta (Jaakola ym. 2018) ja vuonna 2015 löydettiin Suomen ensimmäinen eläimellä ollut CPE-kanta (Grönthal ym. 2018). Työ on tarpeellinen, koska eläinten CPE-esiintyvyyttä on alettu tutkia aktiivisemmin vasta viime vuosikymmenen aikana ja löydöksiä tehdään yhä enemmän. Lisäksi työ kokoaa yhteen olennaisimman tuoreen tiedon aiheesta ja on näin ollen hyödyllinen katsaus esimerkiksi eläinlääkäreille ja lääkäreille. Aihe on ajankohtainen, sillä mikrobilääkeresistenssi uhkaa sekä ihmisten että eläinten terveyttä maailmanlaajuisesti (WHO 2017).

## 2 ENTEROBAKTEERIT

### 2.1 Yleistä enterobakteereista

*Enterobacteriaceae* eli enterobakteerit on suuri bakteeriheimo, johon kuuluu primääripatogeenien lisäksi opportunistisia patogeeneja sekä kommensaaleja. Osa ennen kuvatusta *Enterobacteriaceae*-heimosta on siirtynyt *Morganellaceae*-heimoon, joten enterobakteereista on alettu käyttää lahkonimeä Enterobacteriales. Tässä työssä käytetään kuitenkin heimonimeä *Enterobacteriaceae*, sillä karbapenemaasia tuottavien enterobakteereiden lyhenteeksi on toistaiseksi vakiintunut aikaisemmin mainittu ”carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*” eli CPE.

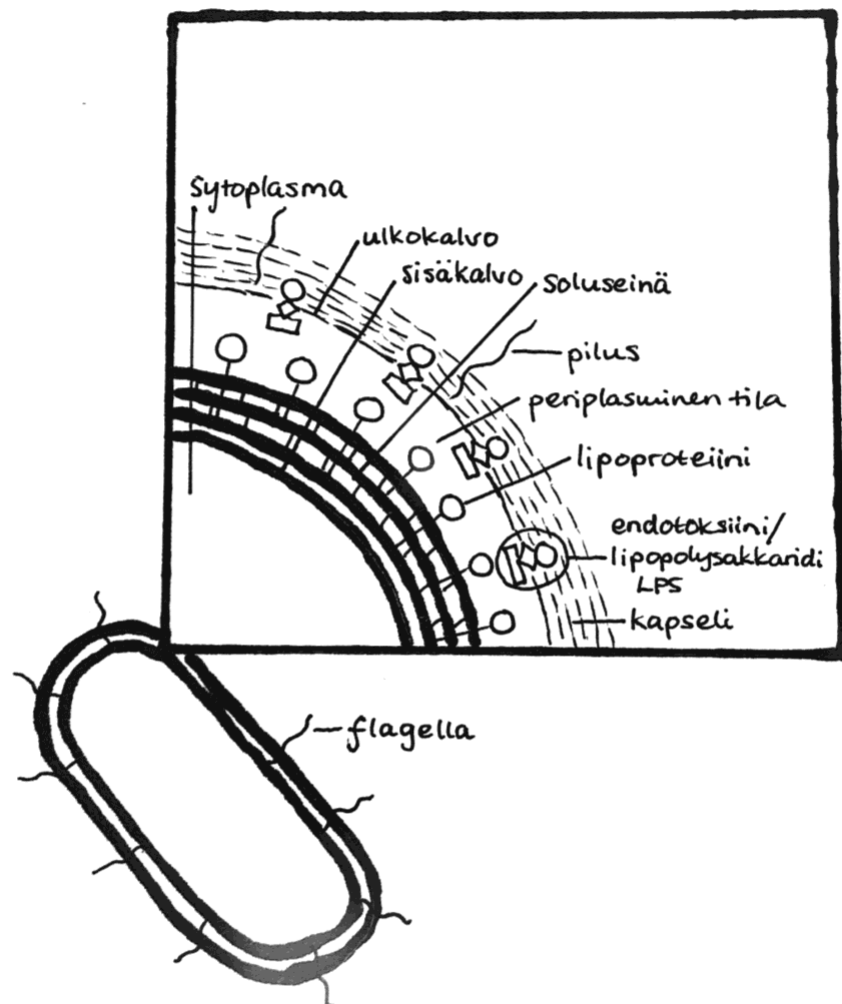
*Enterobacteriaceae*-suvun bakteerit ovat gram-negatiivisia sauvoja ja fakultatiivisia anaerobeja. Fakultatiivinen eli ehdollinen anaerobi voi kasvaa sekä hapellisissa että hapettomissa olosuhteissa. Ne fermentoivat glukoosia, pelkistävät nitraatin nitriitiksi, ovat oksidaasinegatiivisia ja tuottavat katalaasientsyymiä (Donnenberg 2015). Enterobakteerit eivät tuota itiöitä (Quinn ym. 2011).

Yksi tunnetuimmista ja tutkituimmista enterobakteereista on *Escherichia coli*, joka kuuluu monien muiden enterobakteereiden tavoin eläinten suoliston normaalimikrobistoon. *E. coli* voi toimia myös patogeenina: esimerkiksi enterohemorraaginen *E. coli*, lyhennettynä EHEC, voi aiheuttaa esimerkiksi ruokamyrkytyksen ihmisellä (Donnenberg 2015). Enterobakteereihin kuuluvia patogeeneja ovat esimerkiksi salmonellan eri serotyypit, *Serratia marcescens* ja *Yersinia*-lajit (*Y. pestis*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*). Opportunistisia patogeeneja ovat esimerkiksi *Klebsiella pneumoniae* ja *K. oxytoca* sekä *Enterobacter cloacae*.

### 2.2 Rakenne ja virulenssi

Enterobakteerisolun pinnalla on useita liikkumiseen, kiinnittymiseen ja virulenssiin liittyviä rakenteita (kuva 1). Bakteerisolun pinnalla olevat ulokkeet ovat *Enterobacteriaceae*-suvun lajeilla yleisiä ja näitä ovat esimerkiksi flagella ja pilus (Donnenberg 2015). Flagellaa bakteerisolu käyttää liikkumiseen, ja useimmat enterobakteerilajit ovatkin liikkuvia. Piluksilla on rooli esimerkiksi adheesiossa eli bakteerisolun kiinnittymisessä (Donnenberg 2015).

Enterobakteerit tuottavat pintapolysakkarideja, jotka muodostavat kapselin. Gram-negatiivisilla bakteerisoluilla kapselin alla olevassa ulkokalvossa on muun muassa lipopolysakkarideja (LPS), jotka ovat toksiineja ja suojaavat solua monilta sille haitallisilta aineilta. Ulkokalvolla on myös proteiinirakenteisia porineja eli kuljetuskanavia, jotka säätelevät hydrofiilisten molekyylien kuljettamista (Donnenberg 2015). Ulkokalvon ja soluseinän alla olevalla solukalvolla on molekyyliä, usein proteiineja, jotka säätelevät aineiden kuljetusta sisälle soluun ja ulos solusta. Näitä ovat esimerkiksi effluksipumput, jotka siirtävät toksiineja ja antimikrobisia aineita bakteerisolusta pois (Donnenberg 2015).



Kuva 1. Enterobakteerin pintarakenne. Kuva: Katarina Eskola



Enterobakteerien virulenssitekijät ovat monipuolisia. Bakteerilajista riippuen niillä on kyky tuottaa erilaisia toksiineja, jotka voivat aiheuttaa isäntäsolun hajoamisen. Toksiineja eritetään joko ympäristöön tai suoraan isäntäsoluun. Pintarakenteet suojaavat bakteerisoluja fagosytoosilta ja auttavat adheesiossa eli kiinnittymisessä. Ulkokalvon lipopolysakkaridit ovat merkittävä enterobakteerien ja muiden gram-negatiivisten bakteerien virulenssitekijä (Donnenberg 2015). Bakteerisolun sisällä olevissa plasmideissa on usein geenejä, joilla on merkittävä rooli patogeenisissa.

### **2.3 Genomi ja geneettisen materiaalin siirtyminen**

Enterobakteerien genomiin kuuluu yleisesti yksi rengaskromosomi sekä yksi tai useampi plasmidi, joka toimii myös virulenssitekijänä. Plasmidi pystyy siirtymään toiseen bakteerisolun suoran bakteerisolujen välisen geneettisen materiaalin siirron eli konjugaation avulla. Tapahtumaa kutsutaan horisontaaliseksi geenisiirroksi. Konjugaatiossa bakteerisolut ovat siis yhteydessä toisiinsa pilusten välityksellä. Plasmidia kutsutaan liikkuvaksi geneettiseksi elementiksi (*mobile genetic element*, MGE) (Leplae ym. 2005). Myös tietyt bakteriofaagit, geenisaarekkeet, integratiiviset ja konjugatiiviset elementit, insertiosekvenssit, transposonit, integronit ja pienikokoiset käänteiset toistoelementit, jotka voivat vaihtaa paikkaa, luetaan MGE:ihin (Stokes ja Gillings 2011).

MGE:t voivat vaihtaa paikkaa genomin sisällä tai siirtyä sellaisenaan toiseen bakteerisolun. Plasmidissa olevat resistenssigeenit voivat sijaita transposonissa, joka luetaan myös MGE:ksi. Transposonit pystyvät siirtymään genomin sisällä toiseen plasmidiin tai kromosomiin. Ne voivat myös siirtää ja järjestellä kromosomaalista perimämateriaalia (Leplae ym. 2005). MGE:t pystyvät replikoitumaan itsenäisesti ydingeeniensä ansiosta. Ydingeenien lisäksi MGE:illä on niin kutsuttuja lisägeenejä, jotka tuottavat solulle monenlaisia selektiivisiä etuja (Leplae ym. 2005). Näitä voivat olla esimerkiksi antibioottiresistenssigeenit ja virulenssitekijät. Integroni on geneettinen elementti, joka voi olla osa MGE:tä tai kromosomia. Niillä on paikkaspesifinen rekombinaatiosysteemi, joka pystyy ilmentämään ja vaihtamaan tiettyjä DNA-elementtejä (Martinez ja Cruz 1990). Näitä elementtejä kutsutaan geenikaseteiksi.

## 3 KARBAPENEEMIRESISTENSSI

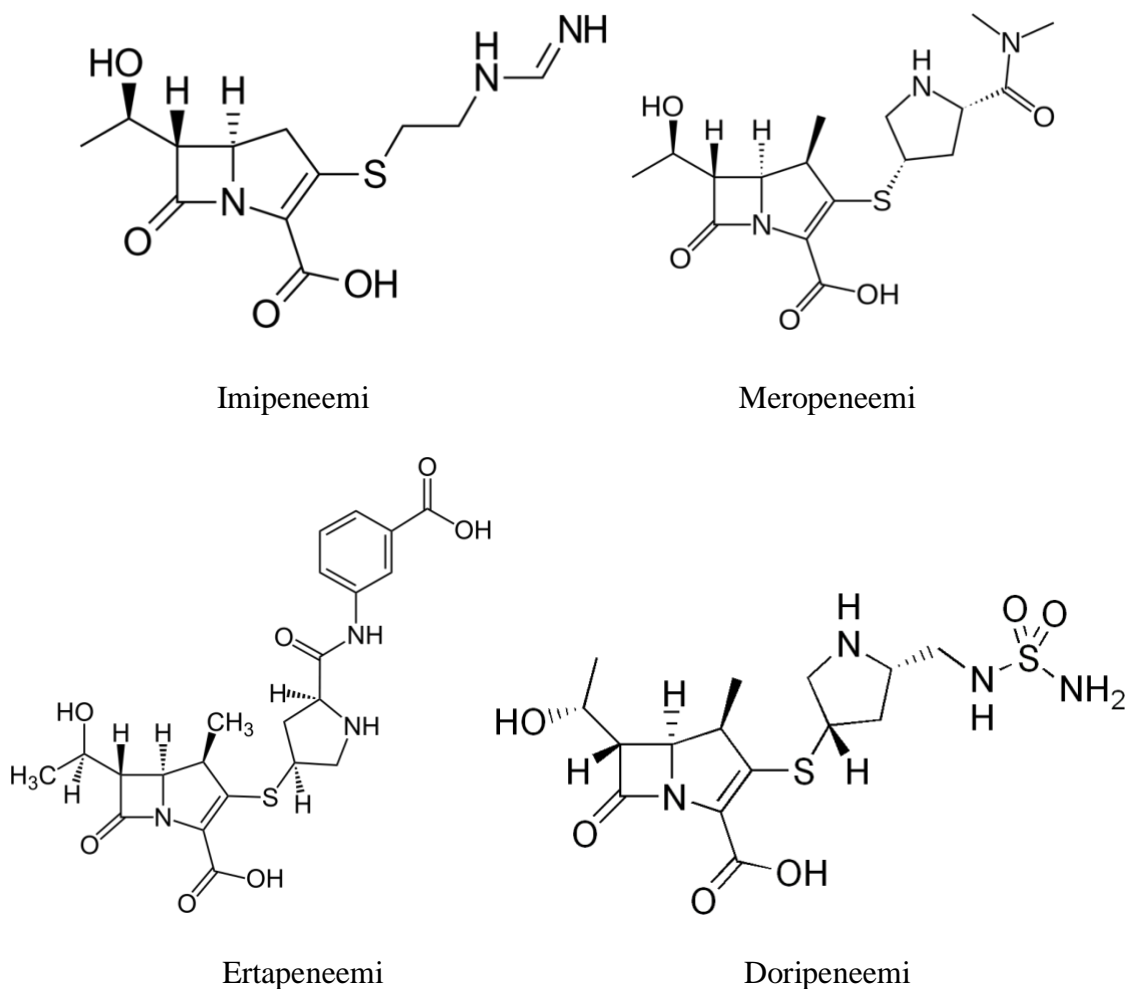
### 3.1 Karbapeneemit

Karbapeneemit ovat laajakirjoisia beetalaktaamiryhmään kuuluvia mikrobilääkkeitä. Niiden rakenteen perustana on beetalaktaamirengas, johon on sitoutunut hiilirengas. Hiilirenkaaseen on puolestaan sitoutunut karboksyylihapporyhmä (kuva 2). Karbapeneemien kirjo kattaa sekä aerobiset että anaerobiset gram-positiiviset ja gram-negatiiviset bakteerit lähes täydellisesti. Poikkeuksia ovat bakteerit, joilla on luontaista resistenssiä karbapeneemejä vastaan. Näitä organismeja ovat esimerkiksi ei-fermentoivat gram-negatiiviset bakteerit, jotka ovat resistenttejä ertapeneemille ja osa myös imipeneemille tai meropeneemille (Leclercq ym. 2013). *P. aeruginosa* on luontaisesti resistentti ertapeneemille, mutta herkkä imi- ja meropeneemille. *Enterococcus faecium*, *Elizabethkingia meningoseptica* ja *Stenotrophomonas maltophilia* ovat luontaisesti resistenttejä kaikille karbapeneemeille (EUCAST Expert Rules 2017).

Beetalaktaamiluokan lääkeaineet ovat tärkeitä gram-negatiivisten bakteerien aiheuttamien infektioiden hoidossa. Karbapeneemejä käytetään ihmisillä gram-negatiivisten bakteereiden aiheuttamien vakavien infektioiden hoitoon. Yleisesti karbapeneemien käyttö on varattu bakteeri-infektioihin, joiden aiheuttajana on moniresistentti bakteeri, joten ne on luokiteltu korkean prioriteetin kriittisen tärkeiksi mikrobilääkkeiksi (WHO 2017). Kriittisen tärkeä mikrobilääke on sellainen, joka on ainoa tai yksi harvoista hoitokeinoista ihmisten vakavissa bakteeri-infektioissa. Infektion aiheuttaneen bakteerikannan ollessa resistentti beetalaktaameille vähenevät hoitovaihtoehdot merkittävästi.

Taulukko 1. Beetalaktaamiryhmän alaluokat ja lääkeaine-esimerkkejä. Esimerkkilääkeaineina eläimille hyväksytyjen lääkeaineiden (\*) lisäksi joitain ihmisille hyväksytyjä lääkeaineita (Lääketietokeskus, Pharmaca Fennica Veterinaria, Pharmaca Fennica, haettu 7.3.2019).

Lääkeryhmä	Alaryhmä	Lääkeaine-esimerkkejä
<b>1.1 Penisilliinit</b>	Penisilliini	Bentsyylipenisilliini*, fenoksimetyylipenisilliini
	Aminopenisilliini	Ampisilliini*, amoksisilliini*
	Penisillinaasia kestävät penisilliinit	Kloksasilliini*, dikloksasilliini
	Amidinopenisilliinit	Mesillinaami
<b>1.2 Beetalaktaami- beetalaktamaasi- inhibiittoriyhdistelmät</b>		Amoksisilliini- klavulaanihappo*, piperasilliini-tatsobaktaami
<b>1.3 Kefeemit</b>	1. polven kefalosporiinit	Kefalotiini, kefadroksiili, kefaleksiini*
	2. polven kefalosporiinit	Kefuroksiimi, kefuroksiimiaksetiili, kefaklori
	3. polven kefalosporiinit	Kefotaksiimi, keftiofuuri, kefovesiini*
	4. polven kefalosporiinit	Kefepiimi
	Kefamysiinit	Kefoksitiini
<b>1.4 Monobaktaamit</b>		Atstreonaami
<b>1.5 Karbapeneemit</b>		Doripeneemi, ertapeneemi, imipeneemi, meropeneemi



Kuva 2. Yleisimpien karbapeneemien kemialliset rakennekaavat (Wikipedia.org).

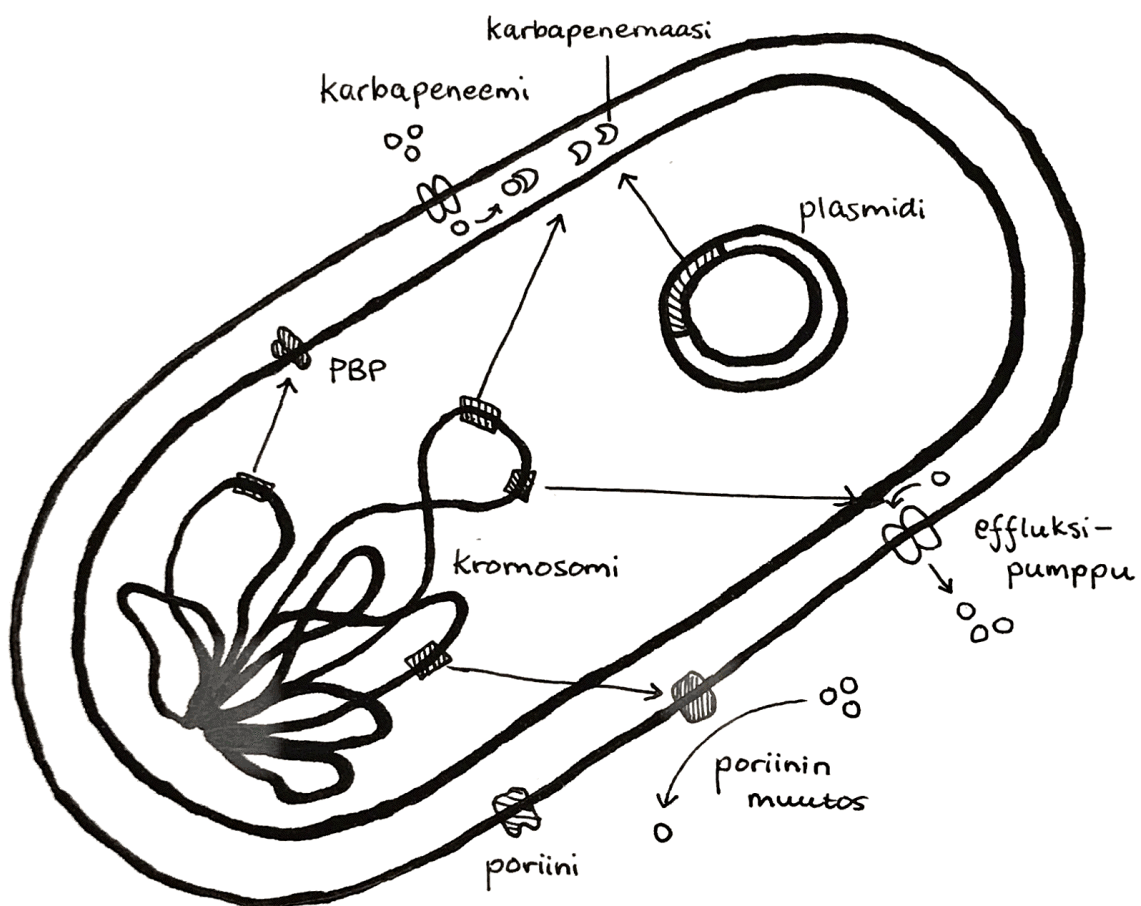
Eläinlääketieteessä ei tiettävästi ole määritetty indikaatioita karbapeneemien käytölle. Suomessa karbapeneemien käyttö eläimille on kielletty (VNa 1054/2014 11§). Ihmisille käytettäviä karbapeneemejä ovat esimerkiksi biapeneemi, doripeneemi, ertapeneemi, faropeneemi, imipeneemi, meropeneemi ja panipeneemi (WHO 2017). Suomessa ihmisten hoitoon rekisteröityjä karbapeneemejä ovat meropeneemi ja ertapeneemi (Lääketietokeskus, Pharmaca Fennica).

### 3.2 Resistenssimekanismit

Karbapeneemiresistenssi voi olla luonnollista tai hankittua (Bhardwaj 2015). Luonnollisessa resistenssissä bakteeri perii suvullisessa jakautumisessa tietynlaisia ominaisuuksia, jotka aiheuttavan karbapenemaasiaktiivisuuden. Hankitussa resistenssissä bakteeri vastaanottaa ulkoista geneettistä materiaalia, kuten transposoneja, plasmideja tai insertiosekvenssejä.

Karbapenemaasigeenit ovat yleisesti plasmidivälitteisiä (Nordmann ja Poirel 2012). Beetalaktamaaseja koodaavissa geneeissä on etuliite *bla*.

Beetalaktamaaseista laajakirjoiset beetalaktamaasit (ESBL) ja luokan C (kaavio 1) erityiset AmpC-entsyymit voivat aiheuttaa karbapeneemiresistenssiä, jos niihin yhdistetään bakteerin solukalvon poriinien mutaatio (Shi ym. 2013). Poriinit ovat solukalvon proteiineja, jotka muuttuessaan tai puuttuessaan voivat hidastaa mikrobilääkeaineiden kulkeutumista bakteerisolun sisälle. Näin ne mahdollistavat ESBL- ja AmpC-entsyymien aktivaation. Muita gram-negatiivisille bakteereille ominaisia luonnollisia karbapeneemiresistenssiin yhdistettyjä ominaisuuksia ovat lääkeaineiden kulkeutumiseen vaikuttavat effluksipumput ja penisilliiniä sitovien kohdeproteiinien (PBP) affiniteetin muutokset (Bhardwaj 2015).



Kuva 3. Havainnekuva karbapeneemiresistenssimekanismeista eri bakteerisoluissa. Karbapenemaaseja koodaavat geenit ovat usein plasmidissa. Kuva: Katarina Eskola

Yleisimmät resistenssimekanismit vaihtelevat bakteerin ominaisuuksien mukaan. Gram-positiivisille kokkibakteereille yleisimmät beetalaktaamiresistenssimekanismit ovat penisilliinejä sitovien proteiinien aminohappojärjestyksen muutokset tai uudenlaisen PBP:n tuotanto (Bhardwaj 2015). Gram-negatiivisilla bakteereilla, kuten *Enterobacteriaceae*-suvun bakteereilla, tyypillisimpiä karbapeneemiresistenssimekanismeja ovat karbapenemaasientsyymien tuotto, poriinien häviäminen, PBP:en muutokset ja effluksipumput (Bhardwaj 2015). Hankittu resistenssi on luonnollista resistenssiä yleisempää CPE-bakteereilla (Smet ym. 2010), mutta luonnollista resistenssiä ei toisaalta tutkita. *K. pneumoniaella* on todettu olevan poriinien ekspressioon liittyvää karbapeneemiresistenssiä (Mena ym. 2006).

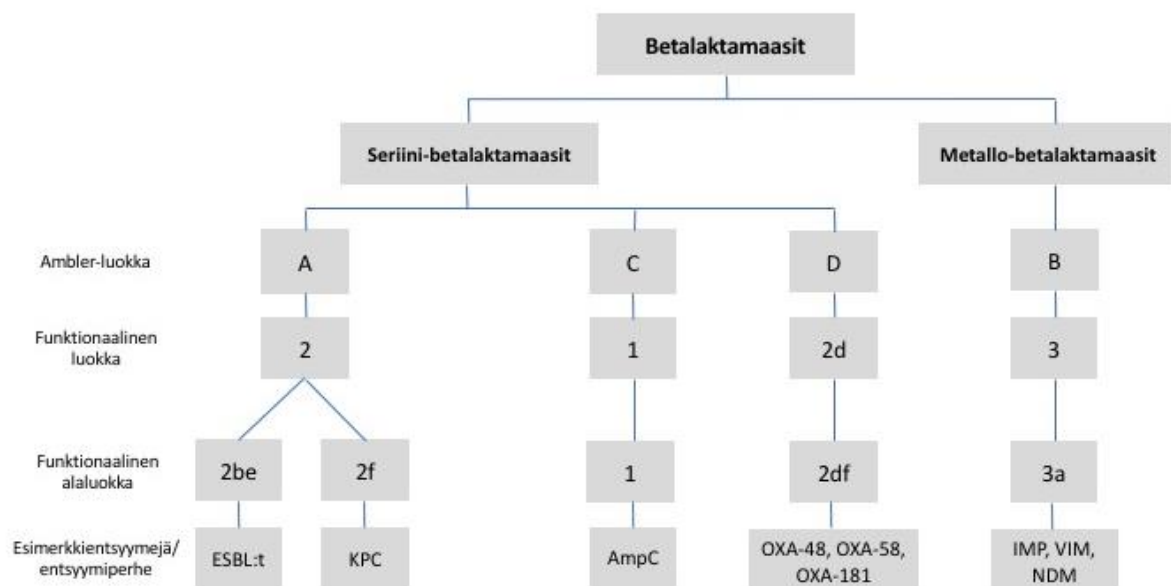
### 3.3 Karbapenemaasien luokittelu

#### 3.3.1 Luokitteluperusteet

Beetalaktamaaseja on tähän mennessä löydetty lähes 2800 erilaista (Bush 2018). Karbapenemaasit kuuluvat beetalaktamaaseihin ja ne ovat laajakirjoisimpia beetalaktamaaseja. Ne hajottavat penisilliinejä sekä useimmissa tapauksissa myös kefalosporiineja. Karbapenemaasien teho karbapeneemejä ja monobaktaameja vastaan vaihtelee. Monilla beetalaktamaasigeeniä kantavilla bakteereilla on myös muita geenejä, jotka koodaavat mikrobilääkkeitä hydrolysoivia entsyymejä tai muita resistenssimekanismeja. Monesti käytetty määritelmä on, että kun resistenssiä esiintyy vähintään kolmen mikrobilääkeryhmän lääkeaineelle, kutsutaan bakteerikantaa moniresistentiksi (*multi-drug resistant*, MDR) (Magiorakos ym. 2012). Resistenssigeeniyhdistelmien esiintyminen on lisääntynyt viime vuosina huolestuttavasti (Bush 2018).

Moniresistenssin määritelmä CPE:n kohdalla ei kuitenkaan ole täysin yksiselitteinen. Karbapenemaaseja tuottavat bakteerikannat ovat Magiorakos ym. (2012) määritelmän mukaan lähes aina moniresistenttejä, elleivät jopa laajasti resistenttejä (*extensively drug resistant*, XDR). Myös panresistenssiä, eli vastustuskykyä kaikille käytössä oleville mikrobilääkeaineille CPE:llä esiintyy (Zowawi ym. 2015, Camargo ym. 2015), mutta löydökset ovat toistaiseksi olleet harvinaisia.

Karbapeneemejä hajottavat entsyymit voidaan luokitella molekulaarisesti kahteen ryhmään (kaavio 1): seriinikarbapenemaaseihin ja metallobeetalaktamaaseihin (MBL) (Ambler 1980). Yleisesti kaikkia karbapeneemejä hajottavia entsyymejä kutsutaan kuitenkin karbapenemaaseiksi. Tätä molekulaarista luokitusta kutsutaan Ambler-luokitukseksi ja siihen kuuluvat luokat A-D (Ambler 1980). Karbapenemaasit voidaan luokitella myös funktionaalisiin eli entsyymin toimintamekanismiin perustuviin luokkiin (Bush 1988, Bush ym. 1995, Bush ja Jacoby 2010). Funktionaalinen luokitus on nykytutkimuksessa yleisesti käytetty luokittelutapa, mutta molempia luokituksia käytetään myös ristiin. Eläinten enterobakteereilla tähän mennessä tavatut karbapenemaasientsyymityypit ovat KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), VIM (*Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase*), IMP (*active-on-imipenem*), OXA-tyypin karbapenemaasit (*oxacillinase*) ja NDM (*New Delhi -metallo- $\beta$ -lactamase*) ja niiden ominaisuuksia on tutkittu kattavasti (Köck ym. 2018).



Kaavio 1. Karbapenemaasien luokittelu aktiivisen kohdan, molekulaarisen Ambler-luokan ja funktionaalisen luokan mukaan. Kaaviossa ei ole mukana kaikkia funktionaalisia luokkia tai alaluokkia, ja esimerkkientsyymeissä on lueteltu ainoastaan karbapenemaasit sekä ESBL ja AmpC.

Mukailtu julkaisua Bush 2018.

### 3.3.2 Luokka A

Luokan A karbapenemaaseista yleisin on eläimilläkin tavattu KPC. Monesti luokasta A puhuttaessa puhutaankin KPC-karbapenemaasiluokasta. KPC-entsyymit hydrolysoivat kaikkia beetalaktaameja, joskin kefamysiiniä ainoastaan matalalla teholla. Niitä voidaan inhiboida ainoastaan osittain *in vitro* klavulaanihapolla, tatsobaktaamilla ja boronihapolla (Nordmann ja Poirel 2013), jotka ovat beetalaktamaasi-inhibiittoreita.

### 3.3.3 Luokka B

Luokkaan B kuuluvat metallobeetalaktamaasit. Näitä ovat muun muassa IMP, NDM ja VIM, jotka kuuluvat tarkemmin luokkaan B3 (Bush 2018). Ne hydrolysoivat kaikkia beetalaktaameita, paitsi monobaktaameja. Metallobeetalaktamaasien aktiivisen kohdan rakenteeseen kuuluu metallikationi, joka on useimmiten sinkkiatomi (Tzouveleakis ym. 2012). Metallikomponentti on entsyymin toiminnalle välttämätön, joten kelaattorit pystyvät inaktivoimaan metallobeetalaktamaaseja. Kliinisessä käytössä olevista beetalaktamaasi-inhibiittoreista yksikään ei inhiboi metallobeetalaktamaaseja, mutta *in vitro* niitä on onnistuttu inhiboimaan esimerkiksi EDTA:lla (Lee ym. 2001). EDTA on kelaattori, joka inhiboi kahdenarvoisia kationeja.

### 3.3.4 Luokka C

Luokassa C ei ole karbapenemaaseja, mutta siihen kuuluvat esimerkiksi AmpC-entsyymit, jotka hajottavat kefalosporiineja, useimpia penisilliinejä ja beetalaktamaasi-inhibiittori-beetalaktaami-yhdistelmiä.

### 3.3.5 Luokka D

Luokassa D on OXA-tyypin beetalaktamaasientsyymejä. OXA-entsyymeistä vain osalla on karbapenemaasiaktiivisuutta ja näistä karbapenemaaseista käytetään joissain yhteyksissä lyhennettä *CHDLs*, *carbapenem-hydrolyzing class D betalactamases* eli karbapeneemejä hydrolysoivat luokan D beetalaktamaasit. OXA-48-tyypin entsyymit ovat luokan D karbapenemaaseja, jotka hydrolysoivat aminopenisilliinejä, ureidopenisilliinejä ja



karbapeneemejä matalalla teholla, mutta eivät merkittävästi hydrolysoi laajakirjoisia kefalosporiineja (Nordmann ja Poirel 2013). Tämän takia niiden havaitseminen ja tunnistaminen laboratoriotutkimuksissa voi olla haastavaa (Poirel ym. 2012). Kliinisessä käytössä olevat antibiootit eivät inhiboi OXA-48-karbapenemaaseja. *In vitro* -kokeissa inhibitiota on onnistuttu tekemään natriumkloridilla (Nordmann ja Poirel 2012).

### **3.4 Epidemiologia**

#### **3.4.1 Enterobakteerien epidemiologia**

Enterobakteerit tarttuvat yleensä feko-oraalisesti eli ulosteen päätyessä suuhun (Quinn ym. 2011). Eläin voi saada tartunnan myös esimerkiksi kontaminoituneen veden tai ruuan kautta. Tyypillisesti enterobakteeripatogeenit aiheuttavat ruuansulatuskanavainfektion tai -intoksikaation, mutta opportunistien aiheuttamien infektioiden kirjo on suuri. Enterobakteerit voivatkin olla osallisena esimerkiksi kohtu-, utare- ja korvatulehduksissa. Erityisesti *E. coli* on tyypillinen virtsatieinfektion aiheuttaja (Quinn ym. 2011). CPE:t itsessään eivät aiheuta oireita, ellei kyseessä ole jokin patogeeninen kanta tai laji, esimerkiksi EHEC tai salmonella. Enterobakteereita voidaan eristää hyvin erilaisista näytetyypeistä (Donnenberg 2015).

Enterobakteerien aiheuttamat infektiot voivat olla sporadisia tai ne voivat aiheuttaa laajempia taudinpurkauksia (Donnenberg 2015). Sairaalassa saaduissa eli nosokomiaalisissa infektioissa tai yhteisössä esiintyvissä taudinpurkauksissa pyritään selvittämään molekyyli diagnostiikan avulla, onko potilasnäytteistä eristetyillä kannoilla yhteinen esi-isä eli kuuluvatko ne samaan sekvenssityyppiin (Donnenberg 2015).

#### **3.4.2 Karbapenemaasien epidemiologia ihmisillä**

Karbapeneemiresistenssin leviämiseen havahduttiin 1990-luvun puolivälissä. Tutkimuksia alettiin tehdä ihmispotilaille. Aluksi karbapeneemiresistenssiä tavattiin lähinnä *Pseudomonas aeruginosalla* (Cantón ym. 2012). Enterobakteereilla luokan B IMP-entsyymiä vastaava geenilöydös tehtiin ensimmäisenä japanilaiselta potilaalta vuonna 1991 (Osano ym. 1994). Karbapenemaasigeeni *bla<sub>IMP-1</sub>* esiintyi tuolloin *Serratia marcescens* -bakteerilla.

Luokan A KPC-2-karbapenemaasia koodaava geeni löydettiin vuonna 1996 Yhdysvaltojen itäosassa *Klebsiella pneumoniae* -bakteerilta (Yigit ym. 2001). Tämän jälkeen KPC-karbapenemaaseja on tavattu ympäri USA:ta ja Euroopassa (Cantón ym. 2012).

Toinen luokan B karbapenemaasi, VIM-1, havaittiin ensi kertaa Italian Veronassa vuonna 1997 (Lauretti ym. 1999). Geeni eristettiin tällöin *P. aeruginosasta*. Ensimmäisen kerran enterobakteereiden VIM-karbapenemaasista huolestuttiin Kreikassa 2000-luvun alussa, kun maassa kehittyi *bla<sub>VIM</sub>*-geeniä kantavan *K. pneumoniaen* ja muiden enterobakteerien aiheuttama epidemia (Vatopoulos 2008). Tämän jälkeen Kreikassa syntyi vielä KPC-karbapenemaasiin liittyvä epidemia (Cantón ym. 2012). VIM-entsyymit yhdistetään kuitenkin useammin *P. aeruginosaan* kuin enterobakteereihin (Rubin ja Pitout 2014).

Ruotsissa löydettiin vuonna 2008 intialaisen sairaalapotilaan *K. pneumoniae* -kannalta uudentyypinen karbapenemaasientsyymi, NDM (Yong ym. 2009). NDM:n leviämisellä on todettu olevan kolme pääreittiä: nosokomiaalinen tartunta, matkustelun kautta ja yhdyskunnan sisällä (Wailan ja Paterson 2014). Ihmisillä NDM-karbapenemaasia tuottavien patogeenien aiheuttamat infektiot liitetään usein Intiaan suuntautuvaan matkailuun ja sairaalaturismiin (Wailan ja Paterson 2014). NDM-karbapenemaasia on tavattu jo kaikissa muissa maanosissa, paitsi Etelämantereella (Escobar Pérez ym. 2013, Johnson ja Woodford 2013).

*blaOXA-48*-geeni eristettiin enterobakteerilta ensimmäisen kerran Turkissa (Carrër ym. 2008). *K. pneumoniaen* kantama karbapenemaasi aiheutti tällöin nosokomiaalisen epidemian. Tämän jälkeen OXA-48-luokan karbapenemaasigeenejä on löydetty *K. pneumoniaen* lisäksi muun muassa *E. colista* ja *E. cloacaesta* ympäri maailmaa, erityisesti Turkin, Lähi-Idän ja Pohjois-Afrikan alueelta (Poirel ym. 2012). Tällä hetkellä OXA-48 on nopeimmin kasvava karbapenemaasiryhmä Euroopassa (Albiger ym. 2015).

Euroopan tautien ehkäisy- ja valvontakeskus (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) julkaisi vuonna 2015 EU-jäsenmaille ja EU:ta ympäröiville maille tehdyn kyselytutkimuksen, jossa selvitettiin CPE-bakteerien levinneisyyttä (Albiger ym. 2015). Vain kolme maata ilmoitti, että CPE-tapauksia ei ole ilmennyt lainkaan. Jopa kolmessatoista yhteensä 28:sta maasta oli tavattu CPE:n leviämistä maiden rajojen yli tai tilanne oli kehittynyt endeemiseksi. Vielä vuonna 2013 ainoastaan kuusi maata oli ilmoittanut saman, joten vain kahdessa vuodessa CPE:n leviäminen oli kiihtynyt dramaattisesti. Tutkimuksessa kuitenkin

arvioitiin, että joidenkin maiden suurempi tietoisuus CPE:n leviämisestä ja tiukemmat valvontaohjelmat voivat vaikuttaa todettujen potilastapauksien määrään kasvattavasti.

Suomessa CPE:n prevalenssi on toistaiseksi matala (Albiger ym. 2015), mutta tapausten määrä ihmisillä on lisääntynyt vuosi vuodelta (Jaakola ym. 2018). Aiemmin suurimpaan osaan potilastapauksista liittyi matkailuhistoria, etenkin Aasiaan tai Etelä-Eurooppaan. Viime vuosina on kuitenkin todettu useita tapauksia, joissa matkailuhistoriaa ei ole ollut. Vuosien 2013-2017 Suomessa todettiin kolme KPC:ta tuottavan ST 512 *K. pneumoniae* aiheuttamaa hoitolaitosryvästä (Jaakola ym. 2018). NDM- ja OXA-karbapenemaaseja tuottavien kantojen määrä on kasvussa ja toistaiseksi yleisin CPE Suomessa on ollut *K. pneumoniae* (Jaakola ym. 2018).

### 3.5 Karbapenemaasituoton tutkiminen

Karbapeneemiherkkyyttä testataan kiekkoherkkyysmenetelmillä (Evira 2018, EUCAST Guidelines 2017). Herkkyysseulontaan käytetään meropeneemiä ja imipeneemiä. Jos bakteerikanta on selvästi resistenssi meropeneemille, testataan kanta luokkien A ja B karbapenemaaseille soveltuvilla inhibiittoreilla. Samalla menetelmällä havaitaan mahdollisesti myös AmpC-aktiivisuus. Karbapenemaasiaktiivisuutta tutkittaessa tutkitaan samalla ESBL- ja AmpC-tuotto erillisellä maljalla, jonka toteutusta ei kuvata tässä työssä.

Kasvatusalustoina menetelmässä käytetään veriagaria, ei-selektiivistä kasvatuslientä (tryptic soy broth, BHI-liemi, Müller-Hinton-liemi) tai 0,9 % NaCl-liuosta tai Müller-Hinton-II-agaria. Kontrollikantoina toimivat *Klebsiella pneumoniae* KPC- ja MBL-negatiivinen kanta sekä KPC-positiivinen kanta. Müller-Hinton-II-maljalle levitetään ei-selektiivisessä alustassa kasvatettua bakteerisuspensiota. Maljalle asetetaan meropeneemi- ja ertapeneemikiekot (vahvuudet 10 µg) ja estovyöhykkeet luetaan inkuboinnin jälkeen (Evira 2018).

Jos meropeneemikiekon ympärillä olevan estovyöhykkeen halkaisija on suurempi kuin 22 millimetriä, kanta ei tuota karbapenemaaseja. Halkaisijan ollessa pienempi kuin 16 millimetriä tutkitaan kannan resistenssiominaisuuksia karbapenemaasikiekkosarjan avulla tarkemmin. Jos estovyöhykkeen halkaisija on 16-22 millimetriä, päätetään tulkinnasta erikseen. Jos estovyöhykkeen halkaisija on ertapeneemikiekon ympärillä suurempi kuin 25 millimetriä,

tutkittava bakteerikanta ei tuota karbapenemaaseja. Halkaisijan ollessa pienempi kuin 22 millimetriä, tehdään jatkotutkimuksia tapauskohtaisesti (Evira 2018).

Tarkemmassa karbapenemaasituoton varmistuksessa (Roscon karbapenemaasikiekkosarja) valmistetaan tutkittavaa bakteerikantaa sisältävä Müller-Hinton-II-malja, jolle asetetaan neljä eri kiekkoa.

- |          |                                      |
|----------|--------------------------------------|
| 1. MRP10 | Meropeneemi 10 µg                    |
| 2. MR+BO | Meropeneemi 10 µg + boronihappo      |
| 3. MR+CX | Meropeneemi 10 µg + kloksasilliini   |
| 4. MR+DP | Meropeneemi 10 µg + dipikoliinihappo |

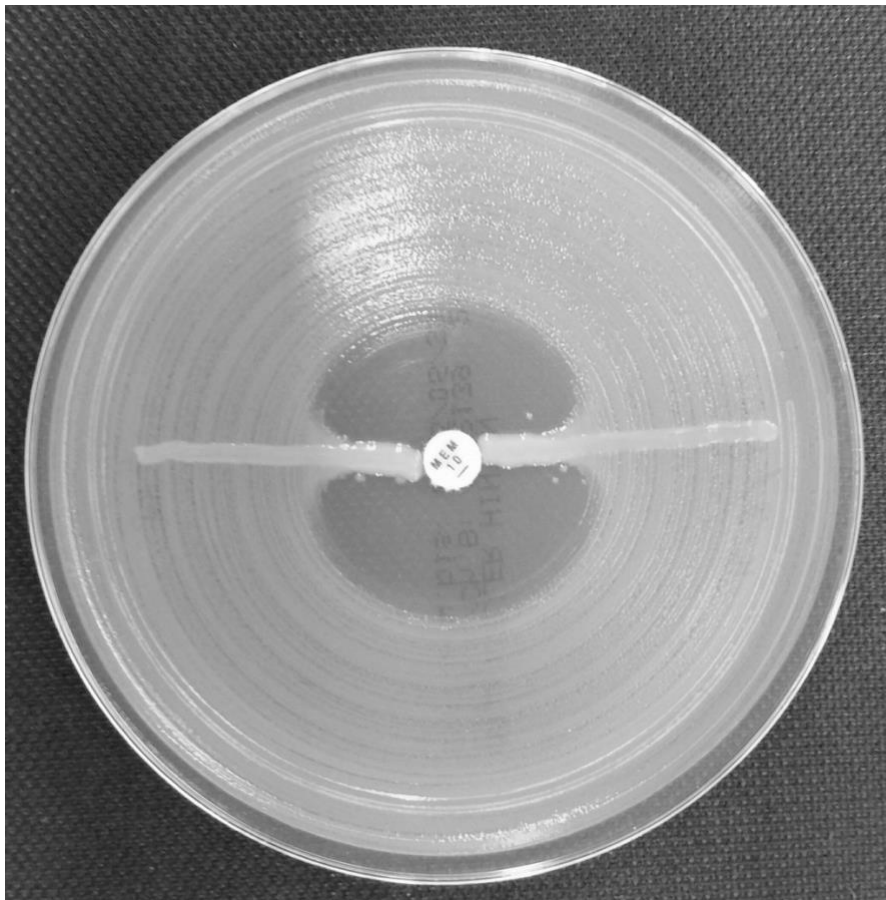
Tuloksien tulkinnessa verrataan meropeneemikiekon ympärillä olevaa estovyöhykettä muiden kiekkojen ympärillä oleviin estovyöhykkeisiin ja lasketaan näiden erotukset (Evira 2018). Erotuksia vertaamalla saadaan tulkinta (taulukko 2).

Taulukko 2. Estovyöhykkeen laajuus verrattuna MRP10-kiekon estovyöhykkeeseen. Mukailtu julkaisua Evira 2018.

MR+BO	MR+CX	MR+DP	Tulkinta
≥ 5 mm	≥ 5 mm	≤ 3 mm	AmpC (+ mahdollinen poriinin menetys)
≥ 5 mm	≤ 3 mm	≤ 3 mm	KPC
≤ 3 mm	≤ 3 mm	≥ 5 mm	MBL
≥ 5 mm	≤ 3 mm	≥ 5 mm	mahdollinen KPC sekä MBL

Modifioitu apilatesti (kuva 4) on toinen karbapenemaasituoton varmistamiseen käytettävä maljaherkkyydesti (Amjad ym. 2011). Testissä käytetään apuna indikaattoribakteerikantaa, joka on yleensä *E. coli*, ja se levitetään koko maljalle taustakasvuksi. Karbapenemaasituoton varalta testattavat kannat levitetään viivana karbapeneemikiekosta kohti reunaa. Karbapeneemikiekkona käytetään 10 µg:n mero- tai ertapeneemikiekkoa (Amjad ym. 2011). Tulos tarkistetaan inkuboinnin jälkeen. Jos testattava bakteerikanta tuottaa karbapenemaasia, pystyy indikaattoribakteerikanta kasvamaan sen läheisyydessä kohti karbapeneemikiekkoa ja estovyöhykkeestä tulee apilan lehden muotoinen. Jos kanta ei tuota karbapenemaasia, indikaattoribakteeri kasvaa kohtisuoraan testikantaan nähden ja estovyöhykkeestä muodostuu tasainen kaari (Amjad ym. 2011).

Kaikki karbapeneemeille resistentit kannat genotyyпитetään. Karbapenemaasigeenejä voidaan tunnistaa PCR- tai sekvensointimenetelmillä (Asthana ym. 2014). Kokogenomisekvensoinnissa (WGS) tunnistetaan koko bakteerikannan genomi, jolloin voidaan erottaa esimerkiksi resistenssi- ja virulenssigeenit. *Multilocus sequence typing* -menetelmässä (MLST) tunnistetaan bakteerilajin useita nukleotidisekvenssejä. Nämä nukleotidisekvenssit vastaavat bakteerin perusaineenvaihduntageenejä, jotka ovat tyypillisiä tietylle bakteerin sekvenssityypille. Kukin sekvenssityyppi numeroidaan, esimerkiksi *E. coli* ST167.



Kuva 4. Modifioitu apilatesti. Kuvassa meropeneemikiekkko maljan keskellä, taustalla indikaattoribakteerikanta ja horisontaalisesti testattavat organismit. Kuvassa olevat molemmat testiorganismit ovat positiivisia, sillä indikaattoribakteerikanta pystyy kasvamaan karbapenemaasipositiivisen kannan läheisyydessä kohti karbapeneemikiekkkoa.

Kuva: Thomas Grönthal

## 4 CPE-BAKTEERIEN ESIINTYMINEN ERI ELÄINLAJEILLA

### 4.1 Kotieläimet

Kotieläinten CPE-tutkimuksia on julkaistu jo useassa maassa. Eniten tutkimuksia on tehty koirista (taulukko 3).

Eläinlaji	Karbapenemaasi	Maa	Julkaisu
Koiria	VIM-1	Espanja	González-Torralba ym. 2016
	NDM-1	Yhdysvallat	Shaheen ym. 2013
	NDM-1	Kiina	Wang Y ym. 2017, Cui ym. 2018
	NDM-5	Algeria	Yousfi ym. 2016
	NDM-5	Kiina	Wang Y ym. 2017
	NDM-5	Etelä-Korea	Hong ym. 2018
	NDM-5	Suomi	Grönthal ym. 2018
	NDM-5	Iso-Britannia	Reynolds ym. 2019
	NDM-9	Kiina	Wang Y ym. 2017
	OXA-48	Saksa	Stolle ym. 2013, Schmiedel ym. 2014, Pulss ym. 2018
	OXA-48	Yhdysvallat	Liu X ym. 2016
	OXA-48	Ranska	Melo ym. 2017
	OXA-48	Algeria	Yousfi ym. 2018
Kissa	IMP-4	Australia	Abraham ym. 2016
	NDM-1	Yhdysvallat	Shaheen ym. 2013
	OXA-48	Saksa	Schmiedel ym. 2014, Pulss ym. 2018
	OXA-48	Algeria	Yousfi ym. 2016, Yousfi ym. 2018
	OXA-48	Yhdysvallat	Liu X ym. 2016
Marsu	OXA-48	Saksa	Pulss ym. 2018
Rotta	OXA-48	Saksa	Pulss ym. 2018
Hiiri	OXA-48	Saksa	Pulss ym. 2018
Kani	OXA-48	Saksa	Pulss ym. 2018
Lemmikkilinnut	OXA-48	Algeria	Yousfi ym. 2018
Hevonen	OXA-48	Saksa	Schmiedel ym. 2014
	OXA-48	Algeria	Yousfi ym. 2018

Taulukko 3. Enterobakteereilta löydetty karbapenemaasit kotieläimillä.

#### 4.1.1 Koirat

VIM-1-metallobeetalaktamaasi on löydetty koiralta kerran Espanjassa (González-Torralba ym. 2016). Entsyymiä koodaava geeni eristettiin *K. pneumoniaesta*. Tutkimuksessa *bla*<sub>VIM-1</sub>-geeniä kantavassa luokan 1 integronissa sijaitsi myös muita resistenssitekijöitä, kuten ESBL ja AmpC. Plasmidin koko oli 48 kiloemästä. Tällainen integroni ja plasmidi ovat yleisimmät ihmisellä

tavatut *bla<sub>VIM-1</sub>*-geeniä levittävät liikkuvat geneettiset elementit (Zamorano ym. 2015), joten koiralla tehty löydös voi viitata geenin siirtymiseen ihmisen ja eläimen välillä.

Ensimmäiset NDM-1-löydökset koirilla tehtiin vuosina 2008-2009 Yhdysvalloissa (Shaheen ym. 2013) eri osavaltioista tulleista näytteistä. Tutkimuksessa ei voitu tehdä päätelmiä resistenssin syntymisestä tai leviämisestä, sillä koirien antibioottihoito- tai matkustushistoriaa ei ollut saatavilla. NDM-1 on löydetty koirilta myös Kiinassa (Wang Y ym. 2017, Cui ym. 2018). Näissä tutkimuksissa eristettyjen *E. coli* -kantojen sekvenssityypit olivat ST156 (Wang Y ym. 2017) ja ST167 (Cui ym. 2018). Wangin ym. tutkimuksessa havaittiin koirien olevan mukana *E. coli* *bla<sub>NDM</sub>*-geenin siirtymisessä siipikarjatuotannon, kärpästen, luonnonvaraisten lintujen ja ihmisten välillä.

Samaan entsyymiluokkaan kuuluva NDM-5-karbapenemaasi löydettiin koiran *E. coli* *bla<sub>NDM-5</sub>* ensimmäisen kerran Algeriassa (Yousfi ym. 2016) ja tämän jälkeen Kiinassa (Wang Y ym. 2017). Kiinassa löydettiin samassa tutkimuksessa myös NDM-9-karbapenemaasi (Wang Y ym. 2017). Aasiassa NDM-5 havaittiin koirilla myös Etelä-Koreassa (Hong ym. 2018), jolloin tartuntalähteenä epäiltiin eläinsairaala, jossa kaikki neljä ST410 NDM-5-*E. coli* -positiivista koira olivat olleet hoidossa. Euroopan ensimmäiset koiran *E. coli* *bla<sub>NDM-5</sub>*-löydökset tehtiin vuonna 2015 Suomessa, kun kahdella saman perheen koiralla ulkokorvantulehduksen aiheuttaja todettiin meropenemille resistentiksi (Grönthal ym. 2018). Koirien *E. coli* -kannat olivat samaa sekvenssityyppiä, tarkemmin ST167, ja saman sekvenssityypin *bla<sub>NDM-5</sub>*-geeniä kantava *E. coli* löytyi myös yhdeltä perheenjäseneltä. Koirilta ja molemmilta perheenjäseniltä eristettiin myös ESBL-ominaisuutta kantava ST69 *E. coli*. Tutkimus on todennäköisesti ensimmäinen, jossa todistettiin CPE-bakteerin siirtyminen ihmisen ja koiran välillä. Vuonna 2015 löydettiin NDM-5-karbapenemaasia kantava ST410 *E. coli* koiralla myös Isossa-Britanniassa (Reynolds ym. 2019).

Koirilla OXA-48-karbapenemaasia koodaava geeni löydettiin ensimmäisen kerran Saksassa vuonna 2012 (Stolle ym. 2013). Karbapenemaasigeenin leviämisen syyksi epäiltiin tutkimuksessa nosokomiaalista tartuntaa, sillä tutkimuksessa olleilla potilailla ei antibiootthistorian perusteella ollut syytä epäillä karbapenemaasin tuottajien *in vivo* -valikoitumista. Vuoden sisällä ensimmäisestä julkaisusta tehtiin Saksassa uudelleen vastaava geenilöydös (Schmiedel ym. 2014) ja vuonna 2018 julkaistiin jälleen saksalainen tutkimus, jossa OXA-48-löydöksiä oli tehty jo vuonna 2009 otetuista näytteistä (Pulss ym. 2018).

Sittemmin *bla*<sub>OXA-48</sub>-geeni on löydetty koirien enterobakteereilta Yhdysvalloissa (Liu X ym. 2016), Algeriassa (Yousfi ym. 2016, Yousfi ym. 2018) ja Ranskassa (Melo ym. 2017).

OXA-48-karbapenemaasigeeni on koirilla eristetty *E. colista* (Stolle ym. 2013, Schmiedel ym. 2014, Yousfi ym. 2016, Liu X ym. 2016, Melo ym. 2017, Yousfi ym. 2018, Pulss ym. 2018) , *Klebsiella pneumoniaesta* (Stolle ym. 2013, Schmiedel ym. 2014, Pulss ym. 2017, Yousfi ym. 2018), *Enterobacter cloacaesta* (Schmiedel ym. 2014, Yousfi ym. 2018, Pulss ym. 2018) ja *Klebsiella oxytoca* (Pulss ym. 2018). Geenin on todettu siirtyvän konjugaatiolla bakteerisolujen välillä (Pulss ym. 2018). Tutkimuksissa on löydetty *bla*<sub>OXA-48</sub>-geenin yhteydessä myös resistenssigeeniyhdistelmiä. Se on yhdistetty ESBL-ominaisuuteen (Stolle ym. 2013, Schmiedel ym. 2014, Liu ym. 2016, Pulss ym. 2018), AmpC-entsyymien tuotantoa koodaaviin geeneihin (Liu X ym. 2016, Pulss ym. 2018) ja fluorokinoloniresistenssiin (Schmiedel ym. 2014, Liu X ym. 2016, Yousfi ym. 2018).

#### 4.1.2 Kissat

Kissoilla on tehty ensimmäisenä seuraläimenä löydös IMP-4-karbapenemaasista (Abraham ym. 2016). Australiassa tehdyssä tutkimuksessa eristettiin neljältä löytöeläintalossa elävältä kissalta *bla*<sub>IMP-4</sub>-geeniä kantava *Salmonella enterica* Typhimurium. Kaikki eristetyt bakteerikannat kuuluivat samaan sekvenssityyppiin (ST19) ja niillä oli *bla*<sub>IMP-4</sub>-geenin lisäksi useita muita resistenssigeenejä. IMP-4 on Australiassa yleisin gram-negatiivisilta bakteereilta löydetty karbapenemaasi (Abraham ym. 2016).

NDM-1-karbapenemaasia tuottava *E. coli* -kanta eristettiin kissalta ensi kertaa Yhdysvalloissa (Shaheen ym. 2013). Virtsanäytteessä ollut bakteerikanta ei kyennyt siirtämään geeniä toiselle *E. coli* -kannalle konjugaatiotestissä. Epidemiologian selvitystä ei kyetty tässä tutkimuksessa tekemään mikrobilääke- ja matkustushistoriatietojen puuttumisen takia.

Kissalla ensimmäinen OXA-48-karbapenemaasilöydös tehtiin Saksassa vuosina 2009-2010 otetuista näytteistä (Schmiedel ym. 2014). Kissalla OXA-48 on löydetty *E. colista* (Liu X ym. 2016, Yousfi ym. 2016, Pulss ym. 2018), *Klebsiella pneumoniaesta* (Schmiedel ym. 2014, Pulss ym. 2018, Yousfi ym. 2018) ja *E. cloacaesta* (Pulss ym. 2018). Kissalla OXA-48-karbapenemaasia tuottavat bakteerikannat on yhdistetty ESBL-ominaisuuteen (Schmiedel ym. 2014, Liu X ym. 2016, Yousfi ym. 2016) ja AmpC-tuottoon (Schmiedel ym. 2014).



Algerialaisessa tutkimuksessa *bla*<sub>OXA-48</sub> eristettiin yhden terveen ja yhden sairaan kissan *E. colista* (n = 84) (Yousfi ym. 2016), jolloin CPE:n prevalenssi kissoilla oli 2,8 %. Hieman tuoreemmassa saksalaisessa tutkimuksessa OXA-48-karbapenemaasi todettiin 1,6 %:ssa kissojen näytteistä (n = 932) (Pulss ym. 2018), tosin tällöin bakteerilajeja oli useita. Uudemmassa algerialaisessa tutkimuksessa CPE:n prevalenssi kissoilla oli 4,1 % (n = 49) (Yousfi ym. 2018).

#### 4.1.3 Pienet lemmikkinisäkkäät

Pienillä lemmikkinisäkkäillä karbapeneemiresistenssin esiintymistä on toistaiseksi tutkittu ainoastaan yhdessä tutkimuksessa. Saksassa löydettiin *bla*<sub>OXA-48</sub>-karbapenemaasigeeni marsulta, rotalta, hiireltä ja kanilta (Pulss ym. 2018). Näytteet olivat tutkimuslaboratoriossa potilasnäytteistä löydettyjä enterobakteerikantoja. Marsulla OXA-48-karbapenemaasia koodaavan geenin esiintymisen osuus oli 2,3 % (1/43), rotalla 4,3 % (1/23), hiirellä 0,6 % (1/180) ja kanilla 0,7 % (1/144) kannoista. Kyseisillä lajeilla OXA-48-karbapenemaasia kantava bakteeri oli *Klebsiella pneumoniae*. Tutkimuksessa todettiin, että paikallisella yliopistollisella eläinsairaalalla oli epidemiologinen yhteys suureen osaan karbapenemaasigeenilöydöksiä potilashistorian kautta. Piennisäkkäillä esiintyneiden resistenssigeenien alkuperät jäivät kuitenkin tässä tutkimuksessa epäselväksi, sillä ne eivät olleet olleet hoidossa kyseisessä eläinsairaalassa.

#### 4.1.4 Lemmikkilinnut

Lemmikkilinnuilla karbapeneemiresistenssiä on tavattu kerran algerialaisessa tutkimuksessa (Yousfi ym. 2018). OXA-48-karbapenemaasigeenin prevalenssi terveillä lemmikkilinnuilla oli tutkimuksessa 1,7 % (2/119). Kyseessä oleva CPE oli *Enterobacter cloacae*. Bakteerikannoista löydettiin myös plasmidivälitteinen fluorokinoloniresistenssiä ilmentävä *qnrBL*-geeni. Karbapeneemi- ja fluorokinoloniresistenssigeenit sijaitsivat kuitenkin eri plasmideissa. Karbapenemaasigeeni *bla*<sub>OXA-48</sub> saatiin siirtymään konjugaation avulla.

#### 4.1.5 Hevoset

Karbapeneemiresistenssi hevosten enterobakteereilla ei ole toistaiseksi ollut laajan tutkimuksen kohteena. Hevosilta on kuitenkin löydetty OXA-48-karbapenemaasi kahdessa tutkimuksessa. Ensimmäisen kerran karbapeneemiresistenssiä havaittiin hevosen enterobakteerikannalla vuonna 2014 Saksassa (Schmiedel ym. 2014) ja toinen tutkimus julkaistiin Algeriassa muutamia vuosia myöhemmin (Yousfi ym. 2018). Algerialaisessa tutkimuksessa CPE:n prevalenssi oli 4,0 % (4/100). Saksalaisessa tutkimuksessa tutkittuja näytteitä oli ainoastaan yksi, joka oli positiivinen OXA-48:lle (Schmiedel ym. 2014). OXA-48-karbapenemaasin hallitsevaa bakteerilajia ei kuitenkaan tarkasti ilmoitettu, mutta hevosilta löydettiin tutkimuksessa resistenssigeenejä *E. colista*, *K. pneumoniaesta* sekä muista lajeista, joita ei eritelty.

#### 4.2 Tuotantoeläimet

Tuotantoeläimillä enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä on alettu tutkia laajemmin vasta viime vuosina. Eniten tutkimuksia on julkaistu Saksassa ja Kiinassa (taulukko 4).

Eläinlaji	Karbapenemaasi	Maa	Julkaisu
Sika	VIM-1	Saksa	Fischer ym. 2012, Fischer ym. 2013, Fischer ym. 2017, Falgenhauer ym. 2017, Roschanski ym. 2017
	NDM-1	Intia	Pruthvishree ym. 2017
	NDM-1	Kiina	Wang R ym. 2018
	NDM-4	Kiina	Wang R ym. 2018
	NDM-5	Kiina	Kong ym. 2017, Wang R ym. 2018
	NDM-5	Intia	Pruthvishree ym. 2017
	NDM-9	Kiina	Wang R ym. 2018
	OXA-181	Italia	Pulss ym. 2017
Nauta	VIM-2	Kiina	He ym. 2017b
	NDM-5	Kiina	He ym. 2017a, He ym. 2017b
	OXA-48	Egypti	Braun ym. 2016
	OXA-181	Egypti	Braun ym. 2016
Siipikarja (broileri)	KPC	Egypti	Hamza ym. 2016
	NDM	Kiina	Wang X ym. 2018
	NDM	Egypti	Hamza ym. 2016
	NDM-1	Kiina	Liu B ym. 2017b, Wang Y ym. 2017
	NDM-4	Kiina	Liu B ym. 2017b
	NDM-5	Kiina	Liu B ym. 2017b, Liu Z ym. 2017, Wang Y ym. 2017
	NDM-9	Kiina	Liu B ym. 2017a, Liu B ym. 2017b, Wang Y ym. 2017
	NDM-17	Kiina	Liu Z ym. 2017
	OXA-48	Egypti	Hamza ym. 2016

Taulukko 4. Enterobakteereilta löydetyt karbapenemaasit tuotantoeläimillä.

#### 4.2.1 Siat

CPE:n prevalenssin todettiin olleen matala (1,7 %) saksalaisilla sikatiloilla vuosina 2011-2013 (Roschanski ym. 2017), mutta toisaalta hieman tuoreemmassa tutkimuksessa arvosteltiin tutkimussuunnitelman ja -menetelmien vaikutusta esiintyvyyteen (Fischer ym. 2017). Sekä Roschanskin että Fischerin tutkimuksissa arvioitiin, että esiintyvyys voisi todellisuudessa olla korkeampi, sillä tutkimuksia on suoritettu hieman eri menetelmillä ja harmonista tutkimusdataa tarvittaisiin lisää. Myös otoskoon tulisi olla suurempi, jotta tuloksia voitaisiin yleistää.

Saksassa on perustettu kansallinen tuotantoeläinten ja eläimistä saatavien elintarvikkeiden ESBL:n ja AmpC:n seurantaprojekti RESET (<http://www.RESET-verbund.de>), johon otetuista näytteistä on tutkittu myös karbapeneemiherkkyyksiä ja karbapenemaasigeenejä. VIM-1-karbapenemaasia koodaava geeni on löydetty saksalaisilta sikatiloilta *E. colista* (Fischer ym. 2012, Fischer ym. 2017, Falgenhauer ym. 2017, Roschanski ym. 2017) useasti viime vuosikymmenen sisällä. *E. colin* lisäksi VIM-1-karbapenemaasin kantajuutta on todettu sikojen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis:ssa (Fischer ym. 2013a, Fischer ym. 2017). Tutkimuksissa on epäilty *bla*<sub>VIM-1</sub>-karbapenemaasigeenin siirtymistä horisontaalisesti salmonellalta *E. colille* sekä *E. colin* klonaalista leviämistä sikatilalla (Fischer ym. 2017).

Sikojen *E. coli* -bakteerikannoilla on tavattu myös NDM-karbapenemaaseja. Tähän mennessä Intiassa (Pruthvishree ym. 2017) ja Kiinassa (Kong ym. 2017, Wang R ym. 2018) löydetty NDM-karbapenemaasit ovat NDM-1 (Pruthvishree ym. 2017, Wang R ym. 2018), NDM-4 (Wang R ym. 2018), NDM-5 (Kong ym. 2017, Pruthvishree ym. 2017, Wang R ym. 2018) ja NDM-9 (Wang R ym. 2018). NDM-5-karbapenemaasi on löydetty *E. colin* lisäksi sian *K. pneumoniae* -kannalta (Wang R ym. 2018). *E. colilla* on tavattu sialla myös NDM-karbapenemaasigeenien ja kolistiiniresistenssigeeni *mcr-1*:n yhteiskantajuutta (Kong ym. 2017, Wang R ym. 2018).

OXA-karbapenemaasista on yksi löydös sialla (Pulss ym. 2017). Italialaisen sikatilan kahdella eläimellä todettiin kokogenomisekvensoinnilla *bla*<sub>OXA-181</sub>-karbapenemaasigeeni. Toisella sialla oli myös AmpC-geeni *bla*<sub>CMY-2</sub> ja kolistiiniresistenssigeeni *mcr-1*, joka sijaitisivat eri plasmideissa kuin *bla*<sub>OXA-181</sub>. Myös toisen sian *E. coli* -kanta oli moniresistentti, tosin erilainen resistenssiprofiililtaan.

Karbapenemaasigeenien lisäksi sian *E. colista* on löydetty effluksipumppujen välityksellä toimivaa karbapeneemiresistenssiä (Pruthvishree ym. 2017). Yhdysvalloissa vuonna 2015 tehdyssä tutkimuksessa havaittiin enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä sikatiloilla karsinoiden ympäristössä, mutta ei suoraan sikojen peräsuolinäytteissä (Mollenkopf ym. 2017). Ympäristöstä kerätyissä näytteissä tavattiin lukuisilla eri enterobakteerilajeilla IMP-27-karbapenemaasi.

#### 4.2.2 Märehtijät

Meropeneemiresistenssiä tavattiin puhvelin vasoilla salmonellan eri serotyypeillä Intiassa (Singh ym. 2012). Resistenttejä kantoja olivat ulosteesta eristetyt *S. Paratyphi* B var java ja *S. Saintpaul*. Intiassa havaittiin märehtijöiden enterobakteerien alentunutta karbapeneemiherkkyyttä toistamiseen, kun toisessa tutkimuksessa lypsylehmien mastiittimaidosta eristettiin imi- ja meropeneemille kohtalaisesti resistenttejä *E. coli* -kantoja (Bandyopadhyay ym. 2015). Tutkimuksissa ei kuitenkaan testattu herkkyysmäärityksen lisäksi resistenssin genotyyppiä.

Varsinaisia karbapenemaasigeenejä märehtijöiltä löydettiin tiettävästi ensimmäisen kerran Egyptissä (Braun ym. 2016). Lypsylehmien peräsuolinäytteissä todettiin *bla<sub>OXA-48</sub>*- ja *bla<sub>OXA-181</sub>*-geenejä *E. coli* -kannoilla. OXA-181 tavattiin tällöin eläimellä ensimmäistä kertaa. Näitä karbapenemaasigeenejä kantavilla bakteerikannoilla oli genomissaan lukuisia muita resistenssiominaisuuksia, kuten ESBL sekä aminoglykosidi- ja kinoloniresistenssigeenejä.

Kiinassa julkaistiin vuonna 2017 kaksi tutkimusta, joissa oli tutkittu tuotantoeläin- ja ympäristönäytteitä karbapeneemiresistenssin varalta (He, Wang ym. 2017, He, Wei ym. 2017). Näissä tutkimuksissa löydettiin lypsylehmiltä sekä *E. coli*- että *K. pneumoniae* -kantoja, jotka kantoivat NDM-5-karbapenemaasia koodaavaa geeniä. Toisessa tutkimuksessa eräältä *E. coli* -kannalta löydettiin *bla<sub>NDM-5</sub>*-geenin lisäksi toinen karbapenemaasigeeni, *bla<sub>VIM-2</sub>*. Samassa tehtiin huolestuttava löydös *E. coli* -kannasta, joka kantoi karbapeneemiresistenssigeenin lisäksi toisessa plasmidissa kolistiiniresistenssigeeniä *mcr-1* (He, Wei ym. 2017). Plasmidi, jossa *mcr-1* oli, pystyttiin siirtämään toiseen NDM-5-karbapenemaasiposiitiviseen *E. coli* -kantaan. Tämä löydös viittaa realistiseen uhkaan jopa panresistenssin kehittymisestä.

### 4.2.3 Siipikarja

Jo vuonna 2008 julkaistiin Saksassa tutkimus, jossa kerrottiin munintakanojen *E. coli* -kantojen fenotyyppisestä imipeneemiresistenssistä (Schwaiger ym. 2008). Tällöin ei kuitenkaan tehty tarkempia tutkimuksia resistenssigeenien selvittämiseksi.

Sittemmin siipikarjalle tehtyjä karbapeneemiresistenssitutkimuksia on julkaistu useita. Etenkin NDM-tyypin karbapenemaaseja on löydetty siipikarjan enterobakteerikannoista sekä Aasiassa (Liu B ym. 2017a, Liu B ym. 2017b, Liu Z ym. 2017, Wang Y ym. 2017, Wang X ym. 2018) että Pohjois-Afrikassa (Hamza ym. 2016). Kiinassa tehtiin merkittävä havainto, kun ripuloivan linnun ulostenäytteessä todettiin kolistiini- ja karbapeneemiresistentti *Cronobacter sakazakii* -kanta (Liu B ym. 2017b). Kannalla oli sekä *mcr-1*- että *bla*<sub>NDM-9</sub>-geeni. Kiinassa löydettiin rutiini-CPE-monitoroinnin yhteydessä siipikarjalinnun *E. coli* -kannalta myös uusi NDM-tyypin karbapenemaasi, NDM-17 (Liu Z ym. 2017).

OXA-karbapenemaaseja on tavattu siipikarjan CPE:llä Egyptissä (Hamza ym. 2016) ja Algeriassa, jossa löydettiin linnun ulosteesta *bla*<sub>OXA-58</sub>-geenejä (Chabou ym. 2018). KPC-karbapenemaasista on raportoitu toistaiseksi ainoastaan Egyptissä (Hamza ym. 2016). Egyptissä tehdyssä tutkimuksessa broilireilla todettiin *K. pneumoniae* -kantojen kantavan useampaa karbapenemaasigeeniä (Hamza ym. 2016): tavattuja yhdistelmiä olivat KPC/OXA-48/NDM, KPC/NDM sekä OXA-48/NDM.

Yksi syy kasvavalle siipikarjan karbapeneemiresistenssitilanteen tutkimiselle on ollut siipikarjan merkittävä rooli ihmiskunnan eläinproteiinin lähteenä, ja tässä Kiina on yksi merkittävimmistä tuottajamaista (Wang Y ym. 2017). Siipikarjassa on todettu enterobakteerien yhtäaikaista kolistiini- ja karbapeneemiresistenssiä (Liu B ym. 2017a, Liu B ym. 2017b, Wang X ym. 2018). Kiinassa kolistiinia on käytetty kasvunestäjänä vuoteen 2017 asti, joka on osaltaan voinut olla osasyynä kolistiiniresistenssin kehittymiselle (Wang Y ym. 2017). Kolistiiniresistenssin lisääntyminen karbapeneemiresistenssin ohella on huolestuttava ilmiö, jonka seurauksena on mahdollista, että bakteerikannat saavuttavat panresistenssin.

### 4.3 Luonnonvaraiset eläimet

Enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä on luonnonvaraisilla eläimillä tutkittu lähinnä linnuista. CPE:tä on löytynyt myös hyönteisistä ja villisioista (taulukko 5).

Eläinlaji	Karbapenemaasi	Maa	Julkaisu
Haarahaukka	NDM-1	Saksa	Fischer ym. 2013
Pääsky	NDM-1	Kiina	Wang Y ym. 2017
Lokki	KPC-2	Espanja	Vergara ym. 2017
	IMP-4	Australia	Dolejska ym. 2016
	IMP-26	Australia	Dolejska ym. 2016
	IMP-38	Australia	Dolejska ym. 2016
	VIM-1	Ranska	Vittecoq ym. 2017
	VIM-1	Espanja	Vergara ym. 2017
	OXA-48	Algeria	Bouaziz ym. 2018
Kattohaikara	OXA-48	Algeria	Bachiri ym. 2018
Kärpänen	NDM-1	Kiina	Wang Y ym. 2017
	NDM-5	Kiina	Wang Y ym. 2017
	NDM-7	Kiina	Wang Y ym. 2017
	NDM-9	Kiina	Wang Y ym. 2017
Torakka	OXA-48	Algeria	Loucif ym. 2016

Taulukko 5. Enterobakteereilta löydetty karbapenemaasit luonnonvaraisilla eläimillä.

#### 4.3.1 Linnut

Karbapeneemeille resistentti bakteerikanta löydettiin ensimmäistä kertaa villieläimestä Saksassa, jossa haarahaukalta eristetyssä *Salmonella enterica* Corvallis -kannan perimässä esiintyi bla<sub>NDM-1</sub>-karbapenemaasigeeni (Fischer ym. 2013b). Löydös oli merkittävä myös siksi, että enterobakteereista salmonellalla on tavattu karbapeneemiresistenssiä toistaiseksi vain harvoin. Tutkittavat bakteerikannat tosin otettiin saksalaisesta salmonellareferenssilaboratoriosta, joten lisää tutkimusta vaadittaisiin todenmukaisen resistenssitilanteen selvittämiseksi. Tutkimuksen tulos kuitenkin alleviivaa sitä, että myös linnut tulisi ottaa huomioon mahdollisina karbapeneemiresistenssin reservuaareina. Myös niiden vapaa kulkeminen maiden välillä aiheuttaa huolta resistenssin leviämisen mahdollisuudesta.

NDM-1-karbapenemaasi on Saksan jälkeen löydetty luonnonvaraiselta linnulta myös Kiinassa (Wang Y ym. 2017). Tällöin kyseessä oleva bakteeri oli *E. coli*. Toiselta pääskyltä löydettiin

samassa tutkimuksessa NDM-5-entsyymi. Tutkimuksessa pohdittiin pääskyjen mahdollista karbapeneemiresistenssin levittämiskapasiteettia ja riskinä onkin, että Kiinasta resistenssigeenit voisivat pääskyjen mukana levitä talvimuuton mukana Kaakkois-Aasiaan (Wang Y ym. 2017).

IMP-karbapenemaaseja linnuilla on toistaiseksi löydetty ainoastaan yhdessä tutkimuksessa, jossa tutkittiin australialaisia lokkeja (Dolejska ym. 2016). Lokkien enterobakteerikannoilla havaittiin karbapenemaasien geenivariantit *bla*<sub>IMP-4</sub>, *bla*<sub>IMP-26</sub> ja *bla*<sub>IMP-38</sub>. Eristettyjä bakteerilajeja olivat yleisimmästä lähtien *E. coli*, *E. fergusonii*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klyuvera georgiana*, *Citrobacter freundii*, *E. cloacae* ja *Citrobacter braakii*. 46 %:lla *bla*<sub>IMP</sub>-positiivisista lokeista oli useampi kuin yksi karbapenemaasigeeniä kantava bakteerikanta.

VIM-1-karbapenemaasia on toistaiseksi esiintynyt luonnonvaraisilla linnuilla Ranskassa (Vittecoq ym. 2017) ja Espanjassa (Vergara ym. 2017). Ranskassa tehdyssä tutkimuksessa vertailtiin eri ympäristöissä asuvien lokkien resistenssigeenejä ja todettiin, että kaupungin lähistöllä asuvilla etelänharmaalokeilla esiintyi karbapeneemiresistenssigeenejä (*bla*<sub>VIM-1</sub>), kun taas ihmisistä erillään asuvista kaitanokkalokeista näitä geenejä ei löytynyt. Tutkimuksessa pohdittiin sitä, että näiden loppilajien ruokavalio eroaa toisistaan, joka osaltaan voisi antaa viitettä karbapeneemiresistenssigeenien siirtymisestä ympäristöstä lokkeihin. Huolestuttavaa oli myös se, että karbapeneemiresistenttiä *E. coli* -bakteeria kantavat lokit asuivat ihmisten lähellä, joka taas voisi mahdollistaa karbapeneemiresistenssin leviämisen lokkien ja ihmisten välillä. Espanjalaisessa tutkimuksessa kaksi etelänharmaalokeilta löytynyttä *E. coli* -kantaa kantoi *bla*<sub>VIM-1</sub>-geenin lisäksi *bla*<sub>KPC-2</sub>-geeniä (Vergara ym. 2017), joskin ne sijaitsivat eri plasmideissa.

Luonnonvaraisilla linnuilla OXA-48-karbapenemaasia on tavattu Algeriassa (Bouaziz ym. 2018). Kolmen kattohaikaran ulostenäytteistä eristetyillä *E. coli* -kannoilla oli perimässään *bla*<sub>OXA-48</sub>-geeni, ja lisäksi näillä todettiin ESBL-ominaisuus. Kaksi kannoista edusti sekvenssityyppeä 38, kun taas yksi kanta kuului todennäköisesti uuteen sekvenssityyppiin. *E. coli* ST38 tavattiin myös kanalla Libanonissa joitain vuosia aiemmin (Al Bayssari ym. 2015).

Lehtopölliöillä on tavattu enterobakteerien heikentynyttä sensitiivisyyttä imipeneemille (Grzywaczewski ym. 2017). Puolassa tehdyssä tutkimuksessa ei kuitenkaan etsitty karbapenemaasigeenejä vaan tehtiin ainoastaan herkkyysmäärittäyksiä.

#### 4.3.2 Muut kädelliset

Afrikassa tehdyssä tutkimuksessa todettiin alentunutta herkkyyttä karbapeneemeille vihermarakattien ja paviaanien *Escherichia fergusonii* -bakteerikannoilla (Glover ym. 2017). Tutkimuksessa tehtiin kuitenkin vain herkkyysmäärittäyksiä eikä karbapenemaasigeenejä tutkittu tarkemmin.

#### 4.3.3 Riistaeläimet

Algeriassa tehdyssä tutkimuksessa todettiin karbapeneemiresistenssiä villisioista eristetyillä *E. coli*- ja *K. pneumoniae* -kannoilla (Bachiri ym. 2018). Karbapeneemiresistenssiä löydettiin tutkimuksessa 1,8 %:ssa näytteistä (3/168). Tavattu karbapenemaasientsyymi oli tyypiltään OXA-48. *K. pneumoniae* -kanta todettiin virulentiksi, kun taas *E. coli* -kannoilla virulenssitekijöitä ei ollut. *E. coli* -kannat olivat samaa sekvenssityyppiä ST635, joten ne olivat klonaalisesti sukua toisilleen.

#### 4.3.4 Hyönteiset

Kiinassa julkaistiin vuonna 2017 tutkimus, jossa löydettiin enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä ensimmäisen kerran kärpäsiltä (Wang Y ym. 2017). Tutkimuksessa kahdelta eri tilalta kerätyiltä kärpäsiltä eristettiin *E. coli* -bakteerikantoja, joiden perimästä tunnistettiin NDM-variantit NDM-1, NDM-5, NDM-7 ja NDM-9. Löydettyjä sekvenssityyppejä oli lukuisia. Kärpästen todettiin toimivan vektorina karbapeneemiresistenssigeenien leviämiseksi. Lisäksi raportoitiin kolistiiniresistenssigeeni-*mcr-1*:n yhtäikaista siirtymistä karbapeneemiresistenssigeenin kanssa, joka herättääkin vakavan huolen kansanterveyden kannalta (Wang Y ym. 2017).

Algeriassa tutkittiin sairaalaympäristöstä kerättyjä torakoita ja niistä löydettiin useita ESBL-ominaisuutta kantavaa enterobakteeria sekä yksi karbapeneemeille resistentti *Enterobacter*



*cloacae* -kanta (Loucif ym. 2016). Kyseisellä bakteerikannalla oli *bla*<sub>OXA-48</sub>-geenin lisäksi ESBL-geenejä.

## 5 POHDINTA

Tämän työn tarkoitus oli luoda ajantasainen katsaus karbapenemaasia tuottavien enterobakteerien esiintymiseen eläimillä. Koonteja aiheesta on tehty muutamiin review-artikkeleihin, mutta tilanne muuttuu jatkuvasti (Guerra ym. 2014, Rubin ja Pitout 2014, Bhardwaj 2015, Köck ym. 2018). Tämän takia on tärkeää, että ajantasaista tietoa kerätään jatkuvasti.

Tähän lisensiaatin työhön valikoidut tutkimukset edustavat kattavasti nykytietämystä eläinten enterobakteerien karbapeneemiresistenssistä. Kuten taulukoista 3, 4 ja 5 on havaittavissa, samoja karbapenemaasigeenejä on löydetty usealta eläinlajilta. Etenkin OXA-48, NDM-1 ja NDM-5 ovat levittäytyneet moneen eläinlajiin. Kaikki maanosat Etelä-Amerikkaa ja Etelämannerta lukuunottamatta ovat edustettuina. On kuitenkin mahdollista ja jopa todennäköistä, että karbapenemaasigeenejä löytyy eläimien enterobakteereista tulevaisuudessa jokaisesta maanosasta. Myös samoja enterobakteerilajien sekvenssityyppejä on tavattu eri eläinlajeilla ja ympäri maailmaa. Esimerkiksi karbapeneemiresistentti *E. coli* sekvenssityyppi 167 on löydetty lokilta Australiassa ja koiralta Suomessa ja Kiinassa (Dolejska ym. 2016, Grönthal ym. 2018, Cui ym. 2018). Kyseessä on kuitenkin aina ollut eri karbapenemaasia koodaava geeni. Toisaalta, on erittäin huolestuttavaa, että Suomessakin eläimillä ja ihmisillä on löydetty samaa karbapenemaasia koodaava geeni samalta bakteerilajin sekvenssityypiltä (Grönthal ym. 2018).

Enterobakteerien yleisin tartuntareitti on feko-oraalinen tartunta. Jos pohditaan todennäköisimpiä tartunnan välittymisiä eläimen ja ihmisen välillä, on esimerkiksi mahdollista, että lemmikin suusta päätyy bakteeria ihmisen huulille ja tätä kautta suolistoon. Eläinperäiset elintarvikkeet yleensä kuumennetaan ennen käyttöä, mutta jälkikontaminaatio on tässäkin mahdollinen. Myös riittämättömässä kypsennyksessä voi potentiaalisesti olla riski resistenttien bakteerien selviytymiselle.

Eläinten CPE-tutkimuksia varjostavat monesti pienet otoskoot. Esimerkiksi Yousfi ym. (2016) pohtivat julkaisussaan sitä, miten otoskoon ollessa rajoittunut ei tuloksia tulisi yleistää edes kansalliselle tasolle kevyin perustein. Luotettavan tiedon keräämiseksi tarvittaisiin suurempia otoskokoja. Toinen ongelma tulkinnessa on, että monien eläinlajien kohdalla todellista

esiintyvyyttä on vielä lähes mahdoton arvioida, sillä tutkimusta on tehty toistaiseksi vain vähän. Myös tutkimusmenetelmät voivat aiheuttaa tulosten vääristymää, kuten esimerkiksi Roschanski ym. (2017) ja Fischer ym. (2017) totesivat julkaisuissaan. Jos tutkimuksessa ei ole tehty karbapenemaasigeenien selektiivistä seulontaa, on CPE:n löytyminen todennäköisesti sattumaa ja tutkimusmenetelmä epäherkkä karbapenemaasigeeneille. Näin ollen tällainen tutkimusaineisto on epäluotettavaa CPE:n esiintyvyyden arvioimiseen. Myös lukuisat bakteerilajit hankaloittavat tulkintaa. Esiintyvyytutkimuksia CPE:stä onkin tehty tähän mennessä vain muutamia. Tähän työhön käytetyn kirjallisuuden perusteella CPE:n esiintyvyys eläimissä on kuitenkin todennäköisesti toistaiseksi matala. Seuraeläimillä esiintyvyys vaihteli Algeriassa 1,5-4,1 % välillä (Yousfi ym. 2016, Yousfi ym. 2018). Euroopan tuotantoeläimillä on raportoitu alle 1 %:n CPE-prevalenssi (Köck ym. 2018). Ihmisellä CPE-kantajuus on yleisempää kuin eläimillä (Woodford ym. 2014).

Eläinperäisten elintarvikkeiden CPE:n esiintymistä on tutkittu vielä varsin maltillisesti ja niiden osallisuus CPE:n kantajuudessa on tunnistettu vasta viime vuosina (Morrison ja Rubin 2015). Useita valvontaohjelmia on perustettu ja otettu käyttöön ympäri maailmaa (Morrison ja Rubin 2015). Suomessa oleva valvontaohjelma FINRES-Vet raportoi tuotantoeläinten ja niistä saatavan lihan resistenssitilanteen. Vuosina 2016-2017 karbapenemaasin tuottajia ei tavattu tuotantoeläimissä tai niistä saatavassa lihassa (Evira publications 2018). Olisi erittäin tärkeää jatkaa tutkimuksia etenkin eläinperäisten elintarvikkeiden osuudesta enterobakteereiden karbapeneemiresistenssin leviämisessä ja mahdollisena vektorina toimimisesta ihmisten CPE-kolonisaatioissa.

Mikrobilääkeresistenssin valvontaohjelmat ovat merkittävässä roolissa resistenttien kantojen prevalenssin ja epidemiologian tunnistamisessa. Ne ovat tärkeitä myös siksi, että ajankohtainen tieto on tällöin helposti ja nopeasti saatavilla sekä eri alojen ammattilaisille että muulle kansalle. Seuranta tulisi jatkaa sekä tuotanto- että seuraeläimillä ja ottaa huomioon sekä terveet että sairast yksilöt. Koska Suomessa löydettiin karbapeneemille resistentti enterobakteerikanta kahdelta koiralta (Grönthal ym. 2018), on nyt erityisen tärkeää kiinnittää huomiota systemaattiseen mikrobiologisten näytteiden herkkyysmäärittelyyn ja varmistaa, että myös karbapeneemiherkkyys seulotaan. Myös luonnonvaraisten eläinten monitorointia tulisi harkita Suomessa, sillä tutkimuksissa on osoitettu niiden potentiaali levittää enterobakteerien karbapeneemiresistenssiä (Wang Y ym. 2017). Huippuvuorilla löydettiin maaperästä *bla*<sub>NDM-1</sub>-karbapenemaasigeeni ja tutkimuksessa pohdittiin, olisivatko geenit voineet siirtyä eristyksissä

olevalle saarelle muuttolintujen välityksellä (McCann ym. 2019). Todellisen epidemiologisen selvityksen mahdollistamiseksi tarvitaan kliinisissä tutkimuksissa tutkittavista potilaista kattavat lääkitys- ja matkusteluhistoriat (Wang Y ym. 2017, Grönthal ym. 2018, Pulss ym. 2018). Tämä ei aina toteudu, joten karbapenemaasigeenien alkuperä jää monesti epäselväksi (Shaheen ym. 2013, Yousfi ym. 2016).

Erityinen huolenaihe, joka tämän liseniaatin työn kirjallisuusaineistosta käy ilmi, on samassa enterobakteerikannassa esiintyvä resistenssiominaisuus sekä kolistiinille että karbapeneemeille (Liu B ym. 2017a, Liu B ym. 2017b, Wang Y ym. 2017, Wang X ym. 2018). Kolistiini on kapeakirjoinen polymyksiineihin kuuluva mikrobilääkeaine. Kolistiini on WHO:n luokittelun mukaan kriittisen tärkeä reservilääkeaine (WHO 2017) ja sitä on käytetty moniresistenttien gram-negatiivisten sauvabakteerien aiheuttamien infektioiden hoitoon. Koska eläimen ja ihmisen välillä on todettu CPE-tartunnan mahdollisuus (Grönthal ym. 2018), on tällaisen resistenssigeeniyhdistelmän siirtyminen ihmiseen merkittävä kansanterveydellinen riski. Tuotantoeläimissä tällaisen mikrobilääkeresistenssin esiintyminen (Liu ym. 2017a, Liu ym. 2017b, Wang Y ym. 2018, Wang X ym. 2018) herättää kysymyksen siitä, miten suuren vaaran eläimistä saatavien elintarvikkeiden nauttiminen voi aiheuttaa ihmisen terveydelle.

Tämän liseniaatin työn perusteella voidaan tehdä päätelmä, että eläimillä esiintyvillä enterobakteereilla on karbapeneemiresistenssi vielä harvinaista. Aiheeseen liittyviä tutkimuksia julkaistaan ja uusia karbapenemaasigeenilöydöksiä tehdään kuitenkin jatkuvasti lisää. Karbapeneemiherkkyyden määrittäminen myös eläinpotilasnäytteistä olisi tärkeää tehdä muiden mikrobilääkeherkkyyshmääritysten ohella, jotta mahdolliset CPE-kantajat voitaisiin havaita. Eläinlääkäreiden tulee Suomessakin olla varautuneita CPE:n leviämiseen ja CPE-kantajien määrän nousuun. Hygieniakäytännöt ovat avainasemassa resistenssin leviämisen ehkäisemisessä ja resistenssin kehittymisen hillitsemiseksi tulisi seurata aktiivisesti hoitosuosituksen päivityksiä mikrobilääkkeiden käytön osalta.

## 6 LÄHDELUETTELO

Abraham S, O'Dea M, Trott DJ, Abraham RJ, Hughes D, Pang S, McKew G, Cheong EYL, Merlino J, Saputra S, Malik R, Gottlieb T. Isolation and plasmid characterization of carbapenemase (IMP-4) producing *Salmonella enterica* Typhimurium from cats. *Scientific Reports* 2016, 6: 35527. doi: 10.1038/srep35527

Al Bayssari C, Olaitan AO, Dabboussi F, Hamze M, Rolain J. Emergence of OXA-48-producing *Escherichia coli* clone ST38 in fowl. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2015. 59(1): 745-6. doi: 10.1128/AAC.03552-14

Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Eurosurveillance* 2015, 20: 17-34.

Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences* 1980, 289: 321-331. doi: 10.1098/rstb.1980.0049

Amjad A, Mirza I, Abbasi S, Farwa U, Malik N, Zia F. Modified Hodge test: A simple and effective test for detection of carbapenemase production. *Iranian Journal of Microbiology* 2011, 3: 189-193.

Asthana S, Mathur P, Tak V. Detection of carbapenemase production in gram-negative bacteria. *Journal of Laboratory Physicians* 2014, 6: 69-75. doi: 10.4103/0974-2727.141497

Bachiri T, Bakour S, Lalaoui R, Belkebla N, Allouache M, Rolain JM, Touati A. Occurrence of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolates in the Wildlife: First Report of OXA-48 in Wild Boars in Algeria. *Microbial Drug Resistance* 2018, 24: 337-345. doi: 10.1089/mdr.2016.0323

Bandyopadhyay S, Samanta I, Bhattacharyya D, Nanda PK, Kar D, Chowdhury J, Dandapat P, Das AK, Batul N, Mondal B, Dutta TK, Das G, Das BC, Naskar S, Bandyopadhyay UK, Das SC, Bandyopadhyay S. Co-infection of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in bovine mastitis - three cases reported from India. *Veterinary Quarterly* 2015, 35: 56. doi: 10.1080/01652176.2014.984365

Bhardwaj M. Emergence of Carbapenemase Producing Pathogens in Animals. *Pharmaceutica Analytica Acta* 2015, 6: doi: 10.4172/2153-2435.1000379

Bouaziz A, Loucif L, Ayachi A, Guehaz K, Bendjama E, Rolain J. Migratory White Stork (*Ciconia ciconia*): A Potential Vector of the OXA-48-Producing *Escherichia coli* ST38 Clone in Algeria. *Microbial Drug Resistance* 2018, 24: 461-468. doi: 10.1089/mdr.2017.0174

Braun SD, Ahmed MFE, El-Adawy H, Hotzel H, Engelmann I, Weiß D, Monecke S, Ehrlich R. Surveillance of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Dairy Cattle Farms in the Nile Delta, Egypt. *Frontiers in Microbiology* 2016, 7: 1020. doi: 10.3389/fmicb.2016.01020

- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995, 39: 1211-1233. doi: 10.1128/AAC.39.6.1211
- Bush K. Recent Developments in  $\beta$ -Lactamase Research and Their Implications for the Future. *Reviews of Infectious Diseases* 1988, 10: 681-690.
- Bush K. Past and Present Perspectives on Beta-Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2018. 62:e01076-18 doi: 10.1128/AAC.01076-18
- Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010, 54: 969.
- Camargo JF, Simkins J, Beduschi T, Tekin A, Aragon L, Pérez-Cardona A, Prado CE, Morris MI, Abbo LM, Cantón R. Successful Treatment of Carbapenemase-Producing Pandrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2015, 59: 5903-5908. doi: 10.1128/AAC.00655-15
- Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, Samuelsen Ø, Seifert H, Woodford N, Nordmann P. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 2012, 18: 413-431. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03821.x
- Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-Positive Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008, 52: 2950-2954. doi: 10.1128/AAC.01672-07
- Chabou S, Leulmi H, Davoust B, Aouadi A, Rolain J. Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase- and carbapenemase-encoding genes in poultry faeces from Algeria and Marseille, France. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2018, 13: 28.
- Cui L, Lei L, Lv Y, Zhang R, Liu X, Li M, Zhang F, Wang Y. bla NDM-1 -producing multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from a companion dog in China. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2018, 13: 24-27. doi: 10.1016/j.jgar.2017.10.021
- Dolejska M, Martina Masarikova, Hana Dobiasova, Ivana Jamborova, Renata Karpiskova, Martin Havlicek, Nicholas Carlile, David Priddel, Alois Cizek, Ivan Literak. High prevalence of *Salmonella* and IMP-4-producing Enterobacteriaceae in the silver gull on Five Islands, Australia. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2016. 71(1): 63-70. doi: 10.1093/jac/dkv306
- Donnenberg MS. 220 - Enterobacteriaceae. Teoksessa: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier Inc, 2015: 2517.e5.
- Escobar-Pérez JA, Olarte Escobar NM, Castro-Cardozo B, Valderrama Márquez IA, Garzón Aguilar MI, Martínez de la Barrera L, Barrero Barreto ER, Marquez-Ortiz RA, Moncada Guayazán MV, Vanegas Gómez N. Outbreak of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Unit in Colombia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2013, 57: 1957-1960. doi: 10.1128/AAC.01447-12

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. EUCAST Expert Rules Intrinsic Resistance and Exceptional Phenotypes Tables. Version 3.1., 2016. [http://www.eucast.org/expert\\_rules\\_and\\_intrinsic\\_resistance/](http://www.eucast.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/), haettu 27.3.2019.

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. EUCAST Guidelines for Detection of Resistance Mechanisms and Specific Resistances of Clinical and/or Epidemiological Importance. 2017. [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/), haettu 27.3.2019.

Evira, Fimea, Helsingin yliopisto. FINRES-Vet 2016-2017 – Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents. Evira publications 2018. [https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/evira\\_publications\\_5\\_2018.pdf](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/evira_publications_5_2018.pdf), haettu 1.4.2019.

Evira 2018. ESBL-, AmpC- ja karbapenemaasituoton tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmillä, ohje 3567/5. <https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/vertailulaboratoriotoiminta/mikrobilaakeherkkyiden-testaaminen/evira-3567-esbl-ampc--ja-karbapenemaasituoton.pdf>, haettu 1.4.2019.

Falgenhauer L, Ghosh H, Guerra B, Yao Y, Fritzenwanker M, Fischer J, Helmuth R, Imirzalioglu C, Chakraborty T. Comparative genome analysis of IncHI2 VIM-1 carbapenemase-encoding plasmids of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from a livestock farm in Germany. *Veterinary Microbiology* 2017, 200: 114-117. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.09.001

Fischer J, Rodríguez I, Schmoger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R, Guerra B. *Escherichia coli* producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012, 67: 1793-1795. doi: 10.1093/jac/dks108

Fischer J, Rodríguez I, Schmoger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R, Guerra B. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013a, 68: 478-480. doi: 10.1093/jac/dks393

Fischer J, Schmoger S, Jahn S, Helmuth R, Guerra B. NDM-1 carbapenemase-producing *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Corvallis isolated from a wild bird in Germany. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013b, 68(12): 2954-6. doi: 10.1093/jac/dkt260

Fischer J, San José M, Roschanski N, Schmoger S, Baumann B, Irrgang A, Friese A, Roesler U, Helmuth R, Guerra B. Spread and persistence of VIM-1 Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in three German swine farms in 2011 and 2012. *Veterinary Microbiology* 2017, 200: 118-123. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.04.026

Glover B, Wentzel J, Jenkins A, Van Vuuren M. The first report of *Escherichia fergusonii* isolated from non-human primates, in Africa. *One Health* 2017, 3: 70-75. doi: 10.1016/j.onehlt.2017.05.001

González-Torralba A, Oteo J, Asenjo A, Bautista V, Fuentes E, Alós J. Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Companion Dogs in Madrid, Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2016, 60: 2499-2501. doi: 10.1128/AAC.02383-15

- Grönthal T, Österblad M, Eklund M, Jalava J, Nykäsenoja S, Pekkanen K, Rantala M. Sharing more than friendship – transmission of NDM-5 ST167 and CTX-M-9 ST69 *Escherichia coli* between dogs and humans in a family, Finland, 2015. *Eurosurveillance* 2018, 23: 1. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.27.1700497
- Grzywaczewski G, Kowalczyk-Pecka D, Cios S, Bojar W, Jankuszew A, Bojar H, Kolejko M. Tawny owl *Strix aluco* as a potential transmitter of Enterobacteriaceae epidemiologically relevant for forest service workers, nature protection service and ornithologists. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2017, 24: 62-65. doi: 10.5604/12321966.1230732
- Guerra B, Fischer J, Helmuth R. An emerging public health problem: Acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. *Veterinary Microbiology* 2014, 171: 290-297. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.02.001
- Hamza E, Dorgham SM, Hamza DA. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in broiler poultry farming in Egypt. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2016, 7: 8-10. doi: 10.1016/j.jgar.2016.06.004
- He T, Wang Y, Sun L, Pang M, Zhang L, Wang R. Occurrence and characterization of blaNDM-5-positive *Klebsiella pneumoniae* isolates from dairy cows in Jiangsu, China. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2017, 72: 90.
- He T, Wei R, Zhang L, Sun L, Pang M, Wang Y, Wang R. Characterization of NDM-5-positive extensively resistant *Escherichia coli* isolates from dairy cows. *Veterinary Microbiology* 2017, 207: 153-158. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.06.010
- Hong JS, Song W, Park H, Oh J, Chae J, Han J, Jeong SH. First Detection of New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-5-Producing *Escherichia coli* from Companion Animals in Korea. *Microbial Drug Resistance* 2018, doi: 10.1089/mdr.2018.0237
- Jaakola S, Lyytikäinen O, Rimhanen-Finne R, Salmenlinna S, Savolainen-Kopra C, Liitsola K, Jalava J, Toropainen M, Nohynek H, Virtanen M, Löflund J-E, Kuusi M, Salminen M. Tartuntataudit Suomessa 2017. Terveystieteiden tutkimuskeskus, Helsinki 2018.
- Johnson AP, Woodford N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. *Journal of Medical Microbiology* 2013, 62: 499-513. doi: 10.1099/jmm.0.052555-0
- Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K, Mellmann A, Friedrich AW, Mevius D, Schwarz S, Jurke A. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection* 2018, doi: 10.1016/j.cmi.2018.04.004
- Kong L, Lei C, Ma S, Jiang W, Liu B, Wang Y, Guan R, Men S, Yuan Q, Cheng G, Zhou W, Wang H. Various Sequence Types of *Escherichia coli* Isolates Coharboring bla NDM-5 and mcr-1 Genes from a Commercial Swine Farm in China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017, 61: doi: 10.1128/AAC.02167-16



Laurettil L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, Rossolini GM. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999, 43(7): 1584-90. doi: 10.1128/AAC.43.7.1584

Leclercq R, Cantón R, Brown DFJ, Giske CG, Heisig P, MacGowan AP, Mouton JW, Nordmann P, Rodloff AC, Rossolini GM, Soussy C-, Steinbakk M, Winstanley TG, Kahlmeter G. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection* 2013, 19: 141-160. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x

Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, Yong D, Yum JH. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- $\beta$ -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection* 2001, 7: 88-91. doi: 10.1046/j.1469-0691.2001.00204.x

Leplae R, Summers AO, Frost LS, Toussaint A. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nature Reviews Microbiology* 2005, 3: 722-732. doi: 10.1038/nrmicro1235

Liu B, Song F, Zou M, Hao Z, Shan H. Emergence of Colistin Resistance Gene mcr-1 in *Cronobacter sakazakii* Producing NDM-9 and in *Escherichia coli* from the Same Animal. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017a, 61: 16. doi: 10.1128/AAC.01444-16

Liu B, Song F, Zou M, Zhang Q, Shan H. High Incidence of *Escherichia coli* Strains Coharboring mcr-1 and bla NDM from Chickens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017b, 61: doi: 10.1128/AAC.02347-16

Liu X, Thungrat K, Boothe DM. Occurrence of OXA-48 Carbapenemase and Other  $\beta$ -Lactamase Genes in ESBL-Producing Multidrug Resistant *Escherichia coli* from Dogs and Cats in the United States, 2009-2013. *Frontiers in Microbiology* 2016, 7: 1057. doi: 10.3389/fmicb.2016.01057

Liu Z, Wang Y, Walsh T, R, Liu D, Shen Z, Zhang R, Yin W, Yao H, Li J, Shen J. Plasmid-Mediated Novel bla NDM-17 Gene Encoding a Carbapenemase with Enhanced Activity in a Sequence Type 48 *Escherichia coli* Strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017, 61: doi: 10.1128/AAC.02233-16

Loucif L, Gacemi-Kirane D, Cherak Z, Chamlal N, Grainat N, Rolain J. First Report of German Cockroaches (*Blattella germanica*) as Reservoirs of CTX-M-15 Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase- and OXA-48 Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Batna University Hospital, Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2016, 60: 6377-6380. doi: 10.1128/AAC.00871-16

Magiorakos A, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 2012, 18: 268-281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x

- Martinez E, Cruz F. Genetic elements involved in Tn21 site-specific integration, a novel mechanism for the dissemination of antibiotic resistance genes. *The EMBO Journal* 1990, 9: 1275-1281. doi: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb08236.x
- McCann CM, Christgen B, Roberts JA, Su J, Arnold KE, Gray ND, Zhu Y, Graham DW. Understanding drivers of antibiotic resistance genes in High Arctic soil ecosystems. *Environment International* 2019, 125: 497-504. doi: 10.1016/j.envint.2019.01.034
- Melo LC, Boisson MNG, Saras E, Médaille C, Boulouis H, Madec J, Haenni M. OXA-48-producing ST372 *Escherichia coli* in a French dog. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2017. 72(4): 1256. doi: 10.1093/jac/dkw531
- Mollenkopf DF, Stull JW, Mathys DA, Bowman AS, Feicht SM, Grooters SV, Daniels JB, Wittum TE. Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Recovered from the Environment of a Swine Farrow-to-Finish Operation in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017, 61: 16. doi: 10.1128/AAC.01298-16
- Morrison BJ, Rubin JE. Carbapenemase Producing Bacteria in the Food Supply Escaping Detection. *PLoS One* 2015, 10: e0126717. doi: 10.1371/journal.pone.0126717
- Nordmann P, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae : here is the storm. *Trends in Molecular Medicine* 2012, 18: 263-272. doi: 10.1016/j.molmed.2012.03.003
- Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013, 68: 487-489. doi: 10.1093/jac/dks426
- Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1994, 38: 71-78. doi: 10.1128/AAC.38.1.71
- Lääketietokeskus. *Pharmaca Fennica -tietokanta*, haettu 6.3.2019.
- Lääketietokeskus. *Pharmaca Fennica Veterinaria -tietokanta*, 6.3.2019.
- Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012, 67: 1597-1606. doi: 10.1093/jac/dks121
- Pruthvishree BS, Vinodh Kumar OR, Sinha DK, Malik YPS, Dubal ZB, Desingu PA, Shivakumar M, Krishnaswamy N, Singh BR. Spatial molecular epidemiology of carbapenem-resistant and New Delhi metallo beta-lactamase (blaNDM)-producing *Escherichia coli* in the piglets of organized farms in India. *Journal of Applied Microbiology* 2017, 122: 1537-1546. doi: 10.1111/jam.13455
- Pulss S, Semmler T, Prenger-Berninghoff E, Bauerfeind R, Ewers C. First report of an *Escherichia coli* strain from swine carrying an OXA-181 carbapenemase and the colistin resistance determinant MCR-1. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2017. 50(2): 232-6. doi: //doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.03.014

Pulss S, Stolle I, Stamm I, Leidner U, Heydel C, Semmler T, Prenger-Berninghoff E, Ewers C. Multispecies and Clonal Dissemination of OXA-48 Carbapenemase in Enterobacteriaceae From Companion Animals in Germany, 2009—2016. *Frontiers in Microbiology* 2018, 9: doi: 10.3389/fmicb.2018.01265

Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile  $\beta$ -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2007, 20: 440. doi: 10.1128/CMR.00001-07

Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2. p. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, Yhdysvallat, 2011.

Reynolds ME, Phan HTT, George S, Hubbard ATM, Stoesser N, Maciucă IE, Crook DW, Timofte D. Occurrence and characterization of *Escherichia coli* ST410 co-harboring blaNDM-5, blaCMY-42 and blaTEM-190 in a dog from the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2019, doi: 10.1093/jac/dkz017

Roschanski N, Friese A, von Salviati- Claudius C, Hering J, Kaesbohrer A, Kreienbrock L, Roesler U. Prevalence of carbapenemase producing Enterobacteriaceae isolated from German pig-fattening farms during the years 2011–2013. *Veterinary Microbiology* 2017, 200: 124-129. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.11.030

Rubin JE, Pitout JDD. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase, carbapenemase and AmpC producing Enterobacteriaceae in companion animals. *Veterinary Microbiology* 2014, 170: 10-18. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.01.017

Schmiedel J, Falgenhauer L, Domann E, Bauerfeind R, Prenger-Berninghoff E, Imirzalioglu C, Chakraborty T. Multiresistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. *BMC Microbiology* 2014, 14: 187. doi: 10.1186/1471-2180-14-187

Schwaiger K, Schmied E-V, Bauer J. Comparative Analysis of Antibiotic Resistance Characteristics of Gram-negative Bacteria Isolated from Laying Hens and Eggs in Conventional and Organic Keeping Systems in Bavaria, Germany. *Zoonoses and Public Health* 2008, 55: 331-341. doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01151.x

Shaheen BW, Nayak R, Dawn M. Emergence of a New Delhi Metallo-  $\beta$ -Lactamase (NDM-1)-Encoding Gene in Clinical *Escherichia coli* Isolates Recovered from Companion Animals in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2013. 57(6):2902-3. doi: 10.1128/AAC.02028-12

Shi W, Li K, Ji Y, Jiang Q, Wang Y, Shi M, Mi Z. Carbapenem and cefoxitin resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains associated with porin OmpK36 loss and DHA-1  $\beta$ -lactamase production. *Brazilian Journal of Microbiology* : [Publication of the Brazilian Society for Microbiology] 2013, 44: 435-442. doi: 10.1590/S1517-83822013000200015

Singh S, Agarwal R, Tiwari S, Singh H. Antibiotic resistance pattern among the *Salmonella* isolated from human, animal and meat in India. *Trop Anim Health Prod* 2012, 44: 665-674. doi: 10.1007/s11250-011-9953-7

Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Herman L, Haesebrouck F, Butaye P. Broad-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiology Reviews* 2010. 34(3): 295. doi: 10.1111/j.1574-6976.2009.00198.x

Stokes HW, Gillings MR. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. *FEMS Microbiology Reviews* 2011, 35: 790-819. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00273.x

Stolle I, Prenger-Berninghoff E, Stamm I, Scheufen S, Hassdenteufel E, Guenther S, Bethe A, Pfeifer Y, Ewers C. Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013, 68: 2802-2808. doi: 10.1093/jac/dkt259

Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and Other Enterobacteriaceae: an Evolving Crisis of Global Dimensions. *Clinical Microbiology Reviews* 2012, 25: 682-707. doi: 10.1128/CMR.05035-11

Vatopoulos A. High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece--a review of the current evidence. *Euro Surveillance : Bulletin European Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 2008, 13:

Vergara A, Pitart C, Montalvo T, Roca I, Sabaté S, Hurtado JC, Planell R, Marco F, Ramírez B, Peracho V, de Simón M, Vila J. Prevalence of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase- and/or Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Yellow-Legged Gulls from Barcelona, Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017, 61:

Vittecoq M, Laurens C, Brazier L, Durand P, Elguero E, Arnal A, Thomas F, Aberkane S, Renaud N, Prugnolle F, Solassol J, Jean-Pierre H, Godreuil S, Renaud F. VIM-1 carbapenemase-producing *Escherichia coli* in gulls from southern France. *Ecology and Evolution* 2017, 7: 1224-1232. doi: 10.1002/ece3.2707

VNa 1054/2014. Valtioneuvoston asetus eräiden lääkeaineiden käytön kieltämisestä eläimille. <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2014/20141054>, haettu 1.4.2019.

Wailan AM, Paterson DL. The spread and acquisition of NDM-1: a multifactorial problem. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 2014, 12: 91-115. doi: 10.1586/14787210.2014.856756

Wang R, Liu Y, Zhang Q, Jin L, Wang Q, Zhang Y, Wang X, Hu M, Li L, Qi J, Luo Y, Wang H. The prevalence of colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from food animals in China: coexistence of mcr-1 and bla NDM with low fitness cost. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2018, 51: 739-744. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.01.023

Wang X, Wang Y, Zhou Y, Li J, Yin W, Wang S, Zhang S, Shen J, Shen Z, Wang Y. Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, mcr-8, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerging Microbes & Infections* 2018, 7: 122-9. doi: 10.1038/s41426-018-0124-z

Wang Y, Zhang R, Li J, Wu Z, Yin W, Schwarz S, Tyrrell JM, Zheng Y, Wang S, Shen Z, Liu Z, Liu J, Lei L, Li M, Zhang Q, Wu C, Zhang Q, Wu Y, Walsh TR, Shen J. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nature Microbiology* 2017, 2: 16260. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.260

Wikipedia.org. Doripenem. <https://en.wikipedia.org/wiki/Doripenem>, haettu 1.4.2019.

Wikipedia.org. Ertapenem. <https://en.wikipedia.org/wiki/Ertapenem>, haettu 1.4.2019.

Wikipedia.org. Imipenem. <https://en.wikipedia.org/wiki/Imipenem>, haettu 1.4.2019.

Wikipedia.org. Meropenem. <https://en.wikipedia.org/wiki/Meropenem>, haettu 1.4.2019.

Woodford N, Wareham DW, Guerra B, Teale C. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2014, 69: 287-291. doi: 10.1093/jac/dkt392

World Health Organization. Critically important antimicrobials for human medicine – 5th rev. Geneva 2017. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255027/9789241512220-eng.pdf?sequence=1>, haettu 7.3.2019.

Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC. Novel Carbapenem-Hydrolyzing  $\beta$ -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001, 45: 1151-1161. doi: 10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001

Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2009, 53(12): 5046-54. doi: 10.1128/AAC.00774-09

Yousfi M, Touati A, Mairi A, Brasme L, Gharout-Sait A, Guillard T, De Champs C. Emergence of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Algeria. *Microbial Drug Resistance* 2016, 22: 342-346. doi: 10.1089/mdr.2015.0196

Yousfi M, Touati A, Muggeo A, Mira B, Asma B, Brasme L, Guillard T, de Champs C. Clonal dissemination of OXA-48-producing *Enterobacter cloacae* isolates from companion animals in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2018, 12: 187-191. doi: 10.1016/j.jgar.2017.10.007

Zamorano L, Miró E, Juan C, Gómez L, Bou G, González-López JJ, Martínez-Martínez L, Aracil B, Conejo MC, Oliver A, Navarro F. Mobile genetic elements related to the diffusion of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases or carbapenemases from Enterobacteriaceae: findings from a multicenter study in Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2015, 59(9): 5260-6. doi: 10.1128/AAC.00562-15

Zowawi HM, Forde BM, Alfaresi M, Alzarouni A, Farahat Y, Chong T, Yin W, Chan K, Li J, Schembri MA, Beatson SA, Paterson DL. Stepwise evolution of pandrug-resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Scientific Reports* 2015, 5: 15082. doi: 10.1038/srep15082